



УДК 547.963.1.057

СИНТЕЗ  $\beta$ -АЛКИЛГЛИКОЗИДОВ  
О-(N-АЦЕТИЛГЛЮКОЗАМИНИЛ)-( $\beta 1 \rightarrow 4$ )-N-АЦЕТИЛМУРАМИЛ-  
L-АЛАНИЛ-D-ИЗОГЛУТАМИНА

Земляков А. Е., Курьянов В. О., Чирва В. Я.,  
Андропова Т. М.\*

Симферопольский государственный университет им. М. В. Фрунзе;  
\* Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина  
Академии наук СССР, Москва

Исходя из О-(N-ацетилглюкозаминил)-( $\beta 1 \rightarrow 4$ )-N-ацетилмурамовой кислоты (GMA), через стадию образования оксазолиина были синтезированы сплона ацетилированные  $\beta$ -метил- и  $\beta$ -гексадецилгликозиды метилового эфира GMA. После удаления защитных групп гликозиды GMA конденсировали с  $\gamma$ -бензиловым эфиром трифторацетата L-аланил-D-изоглутамина. Завершающий гидрогенолиз привел к целевым гликозидам глюкозаминилмурамилдипептида.

О-(N-Ацетилглюкозаминил)-( $\beta 1 \rightarrow 4$ )-N-ацетилмурамил - L - аланил-D-изоглутамин (GMDP), представляющий собой повторяющееся звено пептидогликанов клеточных стенок микобактерий, обладает более высокой биологической активностью по сравнению с N-ацетилмурамил-L-аланил-D-изоглутамином (MDP) [1] и последнее десятилетие широко исследуется. В то же время синтетические производные GMDP мало изучены. В литературе описаны отдельные синтезы пептидных [2] и 6-О-ацильных [3] модификаций глюкозаминилмурамилдипептида.

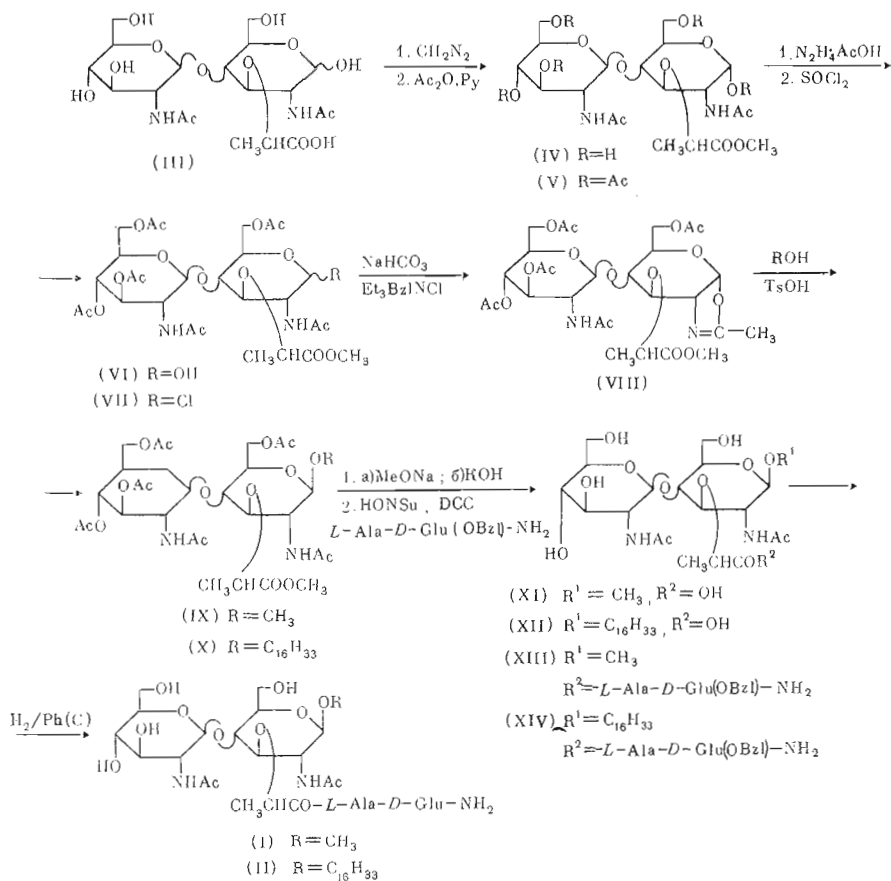
Мы осуществили синтез  $\beta$ -метил- и  $\beta$ -гексадецилгликозидов GMDP ((I) и (II), схема). Такие соединения представляют интерес как с точки зрения поиска биологически активных соединений в ряду аналогов GMDP (известно, что липофильные производные MDP обычно обладают высокой активностью [4]), так и для изучения влияния гликозидного гидроксила в молекуле глюкозаминилмурамилдипептида на биологическую активность.

Исходным веществом в синтезе гликозидов (I) и (II) послужила О-(N-ацетилглюкозаминил)-( $\beta 1 \rightarrow 4$ )-N-ацетилмурамовая кислота (GMA (III)) [2].

Прямое гликозилирование GMA (метанол, катионит КУ-2 (H<sup>+</sup>), 60°С, 2 ч) привело к метанолизу дисахарида. Из реакционной смеси выделили основной компонент — метиловый эфир  $\alpha$ -метиловый эфир N-ацетилмурамовой кислоты. Его строение установили <sup>13</sup>C-ЯМР-спектроскопией (см. «Экспериментальную часть»).

Для построения гликозидной связи мы выбрали оксазолиновый метод [5], который обеспечивает строгую стереоселективность и высокие выходы. Один из наиболее мягких способов получения оксазолинов из соответствующих перацетилхлоридов описан Лемье [6]. Обычные методы получения ацетилхлоридов [5] (действие на метиловый эфир (IV) хлористым ацетилом или хлористым ацетилом, насыщенным хлористым водородом, а также обработка перацетата (V) сухим хлористым водородом) приводили к разрушению дисахарида.

Метилированием кислоты (III) диазومتаном получили эфир (IV), после ацетилирования которого выделили ацетат (V). Наличие в ПМР-спектре этого соединения однопротонного дублета (6,35 м.д.) с константой расщепления 3 Гц подтверждает  $\alpha$ -конфигурацию гликозидного ацетата. Обработка перацетата (V) гидразинацетатом по методике [7] привела к гексаацетату (VI) со свободным гликозидным центром. При взаимодействии соединения (VI) с хлористым тиопилом, по данным ТСХ, образует-



ся хлорид (VII) и небольшое количество оксазолина (VIII). Смесь обработали по методу Лемье и получили оксазолин (VIII), который, не выделяя в индивидуальном виде, использовали в гликозидном синтезе. Метил- и гексадецилгликозиды (IX) и (X) выделены с выходами 76 и 59% соответственно (в перерасчете на соединение (VI)).

В ПМР-спектрах этих соединений можно идентифицировать сигналы протонов агликонов: трехпротонный синглет (3,50 м.д.) метильной группы для гликозида (I), триплет концевой метильной группы (0,83 м.д.) и мультиплет метиленовых протонов (1,24 м.д.) для гексадецильного фрагмента. Деацетилированием по Земплеру соединений (IX) и (X) с последующим щелочным расщеплением метоксикарбонильной группы получили кислоты (XI) и (XII), которые активировали обработкой N-оксисукцинимидом (HONSu) и N,N'-дихлорогексилкарбодимидом (DCC). Конденсацией активированных эфиров с защищенным дипептидом получили гликопептиды (XIII) и (XIV). После удаления бензильной защиты в остатках изоглутамин и каталитического гидрогенолиза выделили гликозидные производные GMDP (I) и (II). Строение конечных продуктов подтверждается их ПМР-спектрами (см. «Экспериментальную часть»). ИК-спектры синтезированных соединений также соответствуют их строению.

### Экспериментальная часть

Температуры плавления определяли на приборе ПТП, оптическое вращение при 20–22° С – на поляриметре Polamat-A (ГДР). Спектры ПМР получены на спектрометре Bruker WM-500 (500 МГц), внутренний стандарт – Me<sub>4</sub>Si. Спектр <sup>13</sup>C-ЯМР снят на спектрометре Bruker WM-250 с рабочей частотой по углероду 62,9 МГц, внутренний эталон – CH<sub>3</sub>OH (49,6 м.д. от Me<sub>4</sub>Si). ИК-спектры записаны на спектрофотометре Specord IR-75 (ГДР, таблетки с KBr). ТСХ проводили на пластинках Silufol UV-254 (ЧССР), обнаружение зон осуществляли обугливанием при 400° С. Использовали системы растворителей: *n*-бутанол – уксусная кислота – вода, 3 : 1 : 1

(А); хлороформ – бензол – этанол, 10:1:1 (Б); бутанол – уксусная кислота – вода, 2:1:1 (В); *n*-бутанол – пиридин – вода, 3:1:1 (Г). Колоночную хроматографию проводили на промытом силикагеле Л 100–250 мкм (ЧССР). Данные элементного анализа для синтезированных соединений соответствуют расчетным значениям. *N*-Ацетилглюкозаминил-*N*-ацетилмуравовая кислота производится НПО «Биолар».

*Метил-2-ацетамидо-2-дезоксид-3-О-[D-1-(метоксикарбонил)этил]- $\alpha$ -D-глюкопиранозид*. Раствор 0,5 г (1,01 ммоль) кислоты (III) в 15 мл метанола нагревали 2 ч при 60–65°С в присутствии 0,5 г катионита КУ-2 (H<sup>+</sup>). Катионит отфильтровали, промыли 5 мл метанола, фильтрат упарили. Колоночной хроматографией (ацетон → ацетон – этанол, 1:1) выделили наиболее подвижный компонент. Получили 0,28 г (86%) гликозида, *R*<sub>f</sub> 0,55 (А). <sup>13</sup>C-ЯМР (<sup>2</sup>H<sub>2</sub>O, м.д.): 19,22 (С<sup>6</sup> (Lac)), 22,78 (СН<sub>3</sub>CO), 52,7<sup>0</sup> (С-2), 55,04 и 55,56 (ОСН<sub>3</sub>, ООСН<sub>3</sub>), 62,45 (С-6), 72,75 (С-4), 73,93 (С-5), 76,82 (С<sup>4</sup> (Lac)), 79,78 (С-3), 99,24 (С-1  $\alpha$ ), 173,50 (СН<sub>3</sub>CO), 177,06 (CO (Lac)).

*2-Ацетамидо-4-О-(2-ацетамидо-3,4,6-три-О-ацетил-2-дезоксид- $\beta$ -D-глюкопиранозил)-1,6-ди-О-ацетил-2-дезоксид-3-О-[D-1-(метоксикарбонил)этил]- $\alpha$ -D-глюкопиранозид* (V). Раствор 2,0 г (4,03 ммоль) 2-ацетамидо-4-О-(2-ацетамидо-2-дезоксид- $\beta$ -D-глюкопиранозил)-2-дезоксид-3-О-(D-1-карбокситил)-D-глюкопиранозид (III) в 200 мл этанола метилировали эфирным раствором диазометана до появления устойчивой желтой окраски. Раствор метилового эфира (IV) упарили досуха и остаток ацетилировали 30 мл уксусного ангидрида в 30 мл пиридина. Реакционную смесь упарили и колоночной хроматографией (хлороформ – бензол, 1:1 → хлороформ – этанол, 50:1) выделили 2,5 г (86%) ацетата (V), т. пл. 225–227°С (из хлороформа и эфира), [ $\alpha$ ]<sub>546</sub> +35° (с 1,15; хлороформ), *R*<sub>f</sub> 0,50 (Б), *v*<sub>max</sub> (см<sup>-1</sup>): 3320 (NH), 1750, 1230 (сложный эфир), 1660, 1540 (амид). ПМР (С<sup>2</sup>HCl<sub>3</sub>): 1,35д (3H; *J*<sub>СН<sub>3</sub></sub>, сн 7 Гц; СН<sub>3</sub>СН); 1,91 с, 1,94с, 1,96с, 2,01с, 2,06с, 2,08с (21H; 5 ОAc, 2 NAc); 3,72с (3H; COOСН<sub>3</sub>); 4,68к (1H; *J*<sub>СН</sub>, сн<sub>3</sub> 7 Гц; СНСН<sub>3</sub>); 6,35д (1H; *J*<sub>1,2</sub> 3 Гц; H-1  $\alpha$ ); 6,49д, 7,87д (2H, 2NH).

*2-Ацетамидо-4-О-(2-ацетамидо-3,4,6-три-О-ацетил-2-дезоксид- $\beta$ -D-глюкопиранозил)-6-О-ацетил-2-дезоксид-3-О-[D-1-(метоксикарбонил)этил]-D-глюкопиранозид* (VI). К раствору 1,0 г (1,39 ммоль) ацетата (V) в 15 мл смеси DMF–СН<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2:1) добавили 0,14 г (1,53 ммоль) гидразинацетата и перемешивали 3 ч. Раствор упарили, остаток растворили в 200 мл хлороформа и промыли насыщенным раствором NaCl (3×50 мл). Органический слой высушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, упарили. Колоночной хроматографией (хлороформ – этанол, 100:1 → хлороформ – этанол, 10:1) выделили 0,16 г исходного ацетата (V) и 0,70 г соединения (VI) (88% на прореагировавшее вещество), белый аморфный порошок. [ $\alpha$ ]<sub>546</sub> +19° (с 0,85; хлороформ), *R*<sub>f</sub> 0,29 и 0,35 (Б). *v*<sub>max</sub> (см<sup>-1</sup>): 3430 (OH), 3320 (NH), 1760, 1250 (сложный эфир), 1680, 1560 (амид).

*Метил-2-ацетамидо-4-О-(2-ацетамидо-3,4,6-три-О-ацетил-2-дезоксид- $\beta$ -D-глюкопиранозил)-6-О-ацетил-2-дезоксид-3-О-[D-1-(метоксикарбонил)этил]- $\beta$ -D-глюкопиранозид* (IX). К раствору 0,40 г (0,59 ммоль) соединения (VI) в 15 мл сухого дихлорметана при охлаждении льдом прилили 0,06 мл (0,65 ммоль) хлористого тионила и перемешивали 0,5 ч при охлаждении и 1,5 ч при 20°С. По данным ТСХ, образовался хлорид (VII) и небольшое количество оксазолина (VIII) (*R*<sub>f</sub> 0,44 и 0,39 соответственно, система Б). Реакционную смесь упарили досуха, остаток растворили в 15 мл ацетонитрила. В раствор добавили 0,10 г (1,18 ммоль) NaHCO<sub>3</sub> и 0,13 г (0,59 ммоль) Et<sub>3</sub>N. HCl и перемешивали при 50–55°С до полного превращения хлорида (VII) в оксазолин (VIII) (контроль ТСХ, система Б). Осадок отфильтровали, фильтрат упарили, разбавили 100 мл хлороформа, промыли водой (3×30 мл). Органический слой высушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и упарили. Остаток растворили в 10 мл дихлорэтана, добавили 0,5 мл метанола и безводной толуолсульфокислоты до pH 4–5. Реакционную смесь перемешивали при 40–45°С до полного исчезновения оксазолина (VIII) (контроль ТСХ, система Б). Затем раствор нейтрализовали пиридином и упарили. Колоночной хроматографией (хлороформ – этанол, 100:1 → хлороформ – этанол, 25:1) выделили 0,31 г (76% в пересчете на соединение (VI)) гликозида (IX), т. пл. 233–235°С (из хлороформа и эфира), [ $\alpha$ ]<sub>546</sub> –40° (с 0,85; хлороформ), *R*<sub>f</sub> 0,37 (Б). *v*<sub>max</sub> (см<sup>-1</sup>): 3300 (NH), 1760, 1240 (сложный эфир), 1670, 1550 (амид). ПМР (С<sup>2</sup>HCl<sub>3</sub>): 1,40д (3H; *J*<sub>СН<sub>3</sub></sub>, сн 7 Гц; СН<sub>3</sub>СН); 2,00с, 2,06с, 2,08с, 2,11с, 2,17с (18H; 4 ОAc, 2 NAc); 3,50с (3H; ОСН<sub>3</sub>); 3,78с (3H; COOСН<sub>3</sub>); 4,74к (1H; *J*<sub>СН</sub>, сн<sub>3</sub> 7 Гц; СНСН<sub>3</sub>); 6,14д, 7,11д (2H, 2NH).

*Гексадецил-2-ацетамидо-4-О-(2-ацетамидо-3,4,6-три-О-ацетил-2-дезоксид- $\beta$ -D-глюкопиранозил)-6-О-ацетил-2-дезоксид-3-О-[D-1-(метоксикарбонил)этил]- $\beta$ -D-глюкопиранозид* (X). К раствору оксазолина (VIII), полученного из 0,55 г (0,81 ммоль) соединения (VI) по вышеописанной методике, в 15 мл дихлорэтана добавили 0,40 г (1,65 ммоль) гексадеканола-1 и безводной толуолсульфокислоты до pH 4–5. Гликозилирование проводили при 80–85°С до исчезновения оксазолина (контроль ТСХ, система Б). Раствор нейтрализовали пиридином и упарили. Колоночной хроматографией (хлороформ → хлороформ – этанол, 50:1) выделили 0,43 г (59%) гликозида (X), т. пл. 197–198°С (из эфира), [ $\alpha$ ]<sub>546</sub> –37° (с 0,86; хлороформ), *R*<sub>f</sub> 0,60 (Б). *v*<sub>max</sub> (см<sup>-1</sup>): 3270 (NH), 2900, 2830 (СН<sub>2</sub>), 1730, 1250 (сложный эфир), 1650, 1540 (амид). ПМР (С<sup>2</sup>HCl<sub>3</sub>): 0,83 т (3H, *J*<sub>СН<sub>3</sub></sub>, сн<sub>2</sub> 6 Гц; СН<sub>3</sub>СН<sub>2</sub>); 1,21м (СН<sub>2</sub>); 1,30д (3H; *J*<sub>СН<sub>3</sub></sub>, сн 7 Гц; СН<sub>3</sub>СН); 1,90с, 1,97с, 2,01с, 2,08с (18H, 4 ОAc, 2 NAc); 3,68с (3H; COOСН<sub>3</sub>); 4,63к (1H; *J*<sub>СН</sub>, сн<sub>3</sub> 7 Гц; СНСН<sub>3</sub>); 6,04д, 6,91д (2H, 2NH).

*$\gamma$ -Бензиловый эфир O-[метил-2-ацетамидо-4-О-(2-ацетамидо-2-дезоксид- $\beta$ -D-глюкопиранозил)-2-дезоксид- $\beta$ -D-глюкопиранозид-3-ил]-D-лактоил-L-аланил-D-изоглутамина* (XVII). К суспензии 0,28 г (0,40 ммоль) соединения (IX) в 10 мл метанола добавили

0,5 мл 0,1 н. раствора метилата натрия в метаноле. Через 2 ч перемешивания прилили 0,4 мл 1 н. КОН и продолжали реакцию до завершения омыления (контроль ТСХ, система В). Реакционную смесь обработали катионитом КУ-2 (H<sup>+</sup>), смолу отфильтровали, промыли 5 мл метанола, фильтрат упарили досуха. Остаток кислоты (XI) растворили в 10 мл смеси DMF-диоксан (1:1) и при перемешивании и охлаждении льдом добавили 0,056 г (0,48 ммоль) HONSu и 0,104 г (0,51 ммоль) DCC. Через 2 ч отфильтровали осадок N,N'-дихлорогексильмочевины, промыли 5 мл смеси DMF-диоксан (1:1). К фильтрату добавили 0,187 г (0,44 ммоль)  $\gamma$ -бензилowego эфира трифторацетата L-аланил-D-изоглутамина [2] и 0,06 мл триэтиламина. Через 48 ч реакционную смесь упарили и колоночной хроматографией (хлороформ-этанол, 50:1-хлороформ-этанол, 2:1) выделили 0,19 г (59%) дипептидного производного (XIII), аморфный белый порошок,  $[\alpha]_{546}^{20} -33^\circ$  (с 0,67; этанол),  $R_f$  0,41 (В).  $\nu_{\max}$  (см<sup>-1</sup>): 3430-3280 (ОН, NH, NH<sub>2</sub>), 1750 (сложный эфир), 1680, 1560 (амид), 710 (Ph).

$\gamma$ -Бензиловый эфир O-[Гексадецил-2-ацетида-4-O-(2-ацетида-2-дезоксид- $\beta$ -D-глюкопиранозил)-2-дезоксид- $\beta$ -D-глюкопиранозид-3-ил]-D-лактоил-L-аланил-D-изоглутамин (XIV). Гликозид (X) (0,42 г, 0,47 ммоль) омыляли, активировали 0,064 г (0,52 ммоль) HONSu и 0,120 г (0,58 ммоль) DCC, а затем конденсировали с 0,208 г (0,50 ммоль) защищенного дипептида (см. синтез (XIII)) в присутствии 0,07 мл триэтиламина по методике, описанной в синтезе производного (XIII). Получили 0,24 г (51%) соединения (XIV), белый аморфный порошок,  $[\alpha]_{546}^{20} -27^\circ$  (с 0,85; этанол),  $R_f$  0,77 (Г).  $\nu_{\max}$  (см<sup>-1</sup>): 3420-3270 (ОН, NH, NH<sub>2</sub>), 2910, 2840 (CH<sub>2</sub>), 1740 (сложный эфир), 1660, 1540 (амид), 700 (Ph).

O - [Метил-2-ацетида-4-O-(2-ацетида-2-дезоксид- $\beta$ -D-глюкопиранозил)-2-дезоксид- $\beta$ -D-глюкопиранозид-3-ил]-D-лактоил-L-аланил-D-изоглутамин (I). Раствор 0,16 г (0,20 ммоль) соединения (XIV) в 8 мл этанола подвергали в течение 3 ч каталитическому гидрогенолузу (0,1 г 10% Pd/C) при 20° С. Катализатор отфильтровали, промыли 5 мл этанола. Фильтрат упарили досуха, а остаток растерли в эфире. Выход гликопептида (I) 0,14 г (99%), аморфный белый порошок,  $[\alpha]_{546}^{20} -35^\circ$  (с 0,65; этанол),  $R_f$  0,25 (В).  $\nu_{\max}$  (см<sup>-1</sup>): 3420-3300 (ОН, NH, NH<sub>2</sub>), 1670, 1580 (амид). ПМР (<sup>2</sup>H<sub>2</sub>O): 1,38д, 1,45д (6H; J<sub>CH<sub>2</sub>, CH</sub> 7 Гц; 2 CH<sub>3</sub>CH); 1,94с, 2,06с (6H; 2 NAc); 2,47т (2H,  $\gamma$ CH<sub>2</sub>); 3,48с (3H, OCH<sub>3</sub>); 4,38д (1H, J<sub>1,2'</sub> 8 Гц; H-1'); 4,52д (1H; J<sub>1,2</sub> 8 Гц; H-1).

O-[Гексадецил-2-ацетида-4-O-(2-ацетида-2-дезоксид- $\beta$ -D-глюкопиранозил)-2-дезоксид- $\beta$ -D-глюкопиранозид-3-ил]-D-лактоил-L-аланил-D-изоглутамин (II). Гликопептид (XIV) (0,17 г, 0,17 ммоль) подвергли гидрогенолузу по вышеописанной методике. Получили 0,145 г (94%) соединения (II), белый аморфный порошок,  $[\alpha]_{546}^{20} -31^\circ$  (с 0,31; этанол).  $R_f$  0,64 (А).  $\nu_{\max}$  (см<sup>-1</sup>): 3400-3280 (ОН, NH, NH<sub>2</sub>), 2920, 2850 (CH<sub>2</sub>), 1670, 1540 (амид). ПМР (С<sup>2</sup>H<sub>5</sub>O<sup>2</sup>H): 0,83т (3H; СП<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>); 1,24м (CH<sub>2</sub>); 1,31д, 1,38д (6H; J<sub>CH<sub>2</sub>, CH</sub> 7 Гц; 2CH<sub>3</sub>CH); 1,88с, 1,94с (6H, 2 NAc); 2,26т (2H,  $\gamma$ CH<sub>2</sub>); 4,32д (1H; J<sub>1,2'</sub> 8 Гц; H-1'); 4,44д (1H; J<sub>1,2</sub> 8 Гц; H-1).

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Tsujimoto M., Kinoshita F., Okunaga T., Kotani S., Kusumoto S., Yamamoto K., Shiba T. // Microbiol. Immunol. 1979. V. 23. № 9. P. 933-936.
2. Ростовцева Л. И., Андропова Т. М., Малькова В. П., Сорокина И. Б., Иванов В. Т. // Биоорг. химия. 1981. Т. 7. № 12. С. 1843-1858.
3. Inage M., Imoto M., Kambayashi Y., Kusumoto S., Shiba T. // Tetrahedron Lett. 1980. V. 21. P. 3767-3770.
4. Adam A., Petit J.-F., Lefrançois P., Lederer E. // Mol. and Cell. Biochem. 1981. V. 41. P. 27-47.
5. Зурабян С. Э., Хорлин А. Я. // Успехи химии. 1974. Т. 43. № 10. С. 1865-1903.
6. Lemieux R. U., Driguez H. // J. Amer. Chem. Soc. 1975. V. 97. № 14. P. 4069-4075.
7. Бовин Н. В., Зурабян С. Э., Хорлин А. Я. // Изв. АН СССР. Сер. хим. 1981. № 12. С. 2806-2808.

Поступила в редакцию  
20.III.1987

#### SYNTHESIS OF $\beta$ -ALKYLGLYCOSIDES OF O-(N-ACETYLGLUCOSAMINYL)-( $\beta$ 1 $\rightarrow$ 4)-N-ACETYLMURAMYL-L- ALANYL-D-ISOGLUTAMINE

ZEMLYAKOV A. E., KUR'YANOV V. O., CHIRVA V. Ya., ANDRONOVA T. M\*.

M. V. Frunze State University, Simferopol;

\*M. M. Shemyakin Institute of Bioorganic Chemistry, Academy  
of Sciences of the USSR, Moscow

Starting from O-(N-acetylglucosaminyl)-( $\beta$ 1  $\rightarrow$  4)-N-acetylmuramic acid (GMA), through oxazoline derivatives peracetylates  $\beta$ -methyl- and  $\beta$ -hexadecylglycosides of GMA methyl ester were synthesized. After protection the glycosides were coupled with trifluoroacetyl-L-ananyl-D-isoglutamine  $\gamma$ -benzyl ester to yield, upon final hydrogenolysis, the glucosaminylmuramyl dipeptides.