



УДК 547.455'418'366.057

ЭФФЕКТИВНЫЙ СИНТЕЗ МОРАПРЕНИЛМОНОФOSFATСАХАРОВ

Мальцев С. Д., Данилов Л. Л., Шибанов В. Н.

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

Реакцией морапсенилтрихлорацетимидата с моно(три-*n*-октиламмониевыми) солями ацилированных α - и β -аномеров *D*-глюкопиранозилфосфата, *D*-галактопиранозилфосфата, *D*-маннопиранозилфосфата и 2-ацетамидо-2-дезоксид-глюкопиранозилфосфата и последующим удалением защитных групп получены с высоким выходом соответствующие морапсенилмонофосфатсахара. Предложен способ получения трихлорацетимидатов полипреолов в условиях межфазного катализа. Взаимодействием 4,6-ди-*O*-ацетил-2,3-*O*-карбонил- α -*D*-маннопиранозилбромида с дибенилфосфатом триэтиламмония получен 4,6-ди-*O*-ацетил-2,3-*O*-карбонил- β -*D*-маннопиранозилфосфат с выходом 60%. Обнаружено, что реакция 2-метил-(3,4,6-три-*O*-ацетил-1,2-дидезокси- α -*D*-глюкопирано)[2.1-*d*]-2-оксазолина с безводной фосфорной кислотой может быть использована для получения 2-ацетамидо-3,4,6-три-*O*-ацетил-2-дезоксид- β -*D*-глюкопиранозилфосфата.

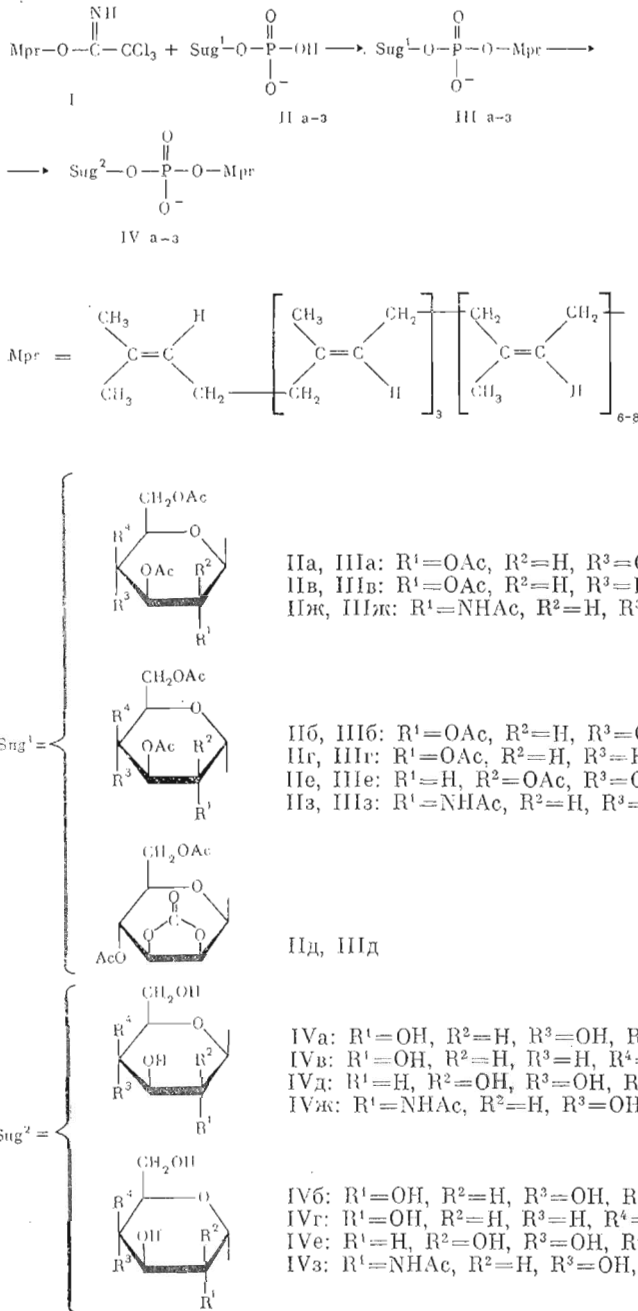
Полипреилмонофосфатсахара принимают участие в биосинтезе углеводных цепей многих сложных биополимеров [1]. Так, хорошо известно, что при биосинтезе *N*-связанных углеводных цепей гликопротеинов в качестве доноров моносахаридных остатков выступают долихилмонофосфатные производные β -*D*-маннопиранозы и β -*D*-глюкопиранозы. Продемонстрировано образование полипреилмонофосфатных производных *D*-глюкозы, *D*-галактозы, *D*-маннозы и 2-ацетамидо-2-дезоксид-глюкозы из бактериального ундекапренилфосфата в различных бактериях (см. обзор [2]). В некоторых случаях, например при биосинтезе *O*-специфических полисахаридов сальмонелл, показано, что эти соединения служат донорами моносахаридных остатков, входящих в боковую цепь полимера, в других случаях их биологические функции остаются невыясненными.

Для дальнейшего исследования биологической роли этих соединений и специфичности ферментов, использующих их в качестве субстратов, существенно разработка общего эффективного метода их химического синтеза, поскольку описанные в литературе методы [3–6] имеют целый ряд недостатков. Особые трудности представляет химический синтез полипреилмонофосфатсахаров — производных полипреолов с ненасыщенным α -изопреновым звеном, что связано, по-видимому, со способностью аллилфосфатной связи расщепляться при нуклеофильной атаке. Так, если при конденсации долихола (α -насыщенный C_{95} -полипренол) с защищенными гликозилфосфатами в присутствии триизопропилбензолсульфохлорида (или дидициклогексилкарбодимида) и пиридина выход долихилмонофосфатсахаров составляет около 50% [3], в аналогичных условиях выход производных фикапренола (полностью ненасыщенного C_{55} -полипренола) составляет менее 25% и в процессе реакции образуется значительное количество побочных продуктов [4].

Взаимодействие 1,2-алкилортоацетатов углеводов с полипреилфосфатами [5, 6] позволяет получать лишь полипреилмонофосфатсахара с 1,2-*транс*-стереохимией углеводного остатка.

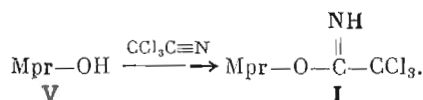
Недавно мы опубликовали краткое сообщение [7] о получении полипреилмонофосфатсахаров с ненасыщенным α -концевым изопреновым звеном из полипреилтрихлорацетимидатов на примере синтеза морапсенил-(β -*D*-глюкопиранозил)фосфата из трихлорацетимидата морапсениола и моно(три-*n*-октиламмониевой) соли β -*D*-глюкопиранозилфосфата. При

Сокращения: THF — тетрагидрофуран, $P_{кл}$ — кислоталабильный фосфат.



более детальным исследованием этой реакции мы нашли, что при использовании защищенных моносахаридов побочные реакции, имеющие место при применении фосфатов свободных сахаров, могут быть подавлены (это обеспечивает более высокий выход целевых продуктов), и распространили этот метод на синтез ряда полипренилмонофосфатсахаров (схема 1).

Исходным соединением для синтеза полипренилмонофосфатсахаров предложенным методом является морапренилтрихлорацетимидат (I). Трихлорацетимидаты аллиловых спиртов обычно получают обработкой соответствующего спирта избытком трихлорацетонитрила в среде безводного апротонного растворителя в присутствии гидрида натрия (см., например, [8]). Реакция очень чувствительна к присутствию влаги, вследствие этого при проведении ее в микромаштабе трудно добиться воспроизводимых результатов.



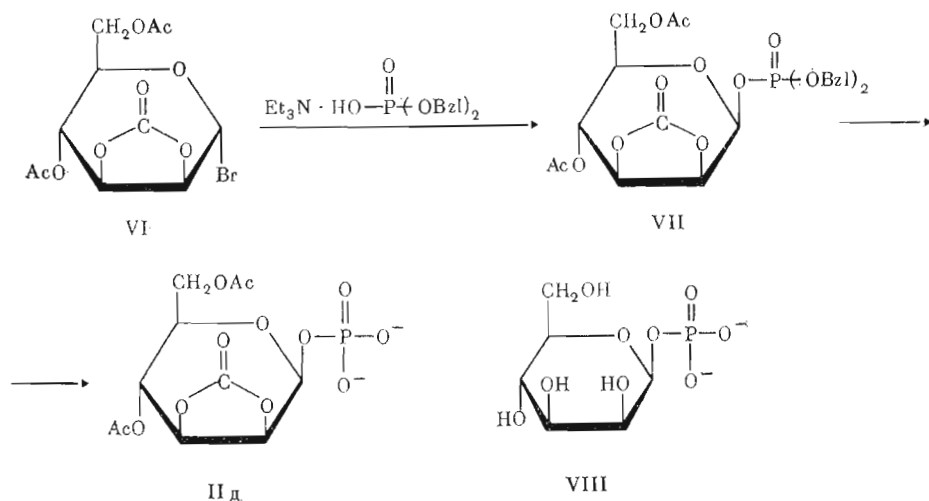
Мы обнаружили, что гораздо удобнее проводить эту реакцию с использованием межфазного катализа. Обработка раствора морапренола (V) в гексане трихлорацетонитрилом и 50% водным раствором NaOH в присутствии тетра-*n*-бутиламмонийбромида при интенсивном перемешивании в течение 45 мин при 20°С привела к практически полному превращению морапренола в имидат (I) по данным ТСХ на оксиде алюминия (при хроматографии на силикагеле трихлорацетимидат морапренола разлагается). После отделения гексанового слоя, пропускания его через слой оксида алюминия и удаления растворителя целевой трихлорацетимидат был выделен в хроматографически однородном виде с выходом 97%. Его строение подтверждено спектром ¹H-ЯМР, в котором присутствовал сигнал имидного протона при 8,2 м.д., а сигнал -CH₂O-группы (4,77 м. д., дд, J_{1,2} 7,0 Гц, J_{1,НН} 1,0 Гц) был смещен на 0,72 м. д. в более слабое поле по сравнению с сигналом -CH₂ОН-группы в морапреноле.

Предложенный метод получения трихлорацетимидатов позволяет получать эти производные из гидрофобных спиртов с высоким выходом. Очевидным его достоинством является нечувствительность к влаге и эффективность для любого масштаба проведения реакции.

В качестве второго исходного соединения для получения полипренилмонофосфатсахаров были использованы ацилированные производные гликозилфосфатов. Тетраацетаты α-аномеров *D*-глюкопиранозил-, *D*-галактопиранозил- и *D*-маннопиранозилфосфата (IIб, IIг и IIе соответственно) получали сплавлением полных ацетатов соответствующих моносахаридов с безводной фосфорной кислотой в условиях метода МакДональда (50°С, 2 ч) [9], неорганический фосфат отделяли от продуктов реакции осаждением в среде тетрагидрофурана в виде триэтиламмониевой соли, нефосфорилированные продукты удаляли как описано в работе [10]. Полные ацетаты β-аномеров *D*-глюкопиранозил- и *D*-галактопиранозилфосфата (IIа и IIв) получали из соответствующих *трет*-бутилортоацетатов углеводов реакцией с безводной фосфорной кислотой в тетрагидрофуране [11, 12].

Для получения ацилированных производных β-*D*-маннопиранозилфосфата в литературе описан единственный способ — фосфорилирование 2,3,4,6-тетра-*O*-ацетил-β-*D*-маннопиранозы *o*-фениленхлорфосфатом [3, 13]. Такое фосфорилирование протекает с умеренным выходом и плохо воспроизводимо из-за трудности получения исходного производного маннозы с фиксированной β-конфигурацией у гликозидного центра. В настоящей работе мы использовали подход [14], ранее успешно примененный при синтезе β-*L*-рамнопиранозилфосфата (схема 2).

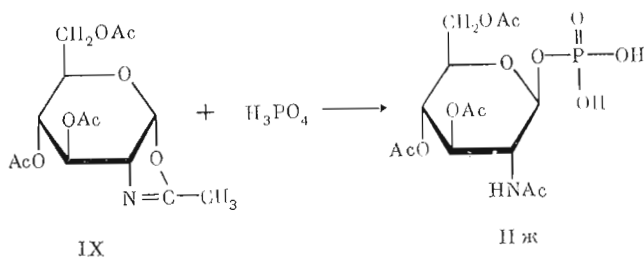
Схема 2



Взаимодействием 4,6-ди-*O*-ацетил-2,3-*O*-карбонил- α -*D*-маннопиранозилбромид (VI) [15] и триэтиламмониевой соли дибензилфосфорной кислоты с последующим удалением бензильных групп гидрогенолизом с высоким выходом был получен 4,6-ди-*O*-ацетил-2,3-*O*-карбонил- β -*D*-маннопиранозилфосфат (IIд). Для подтверждения β -конфигурации гликозилфосфатной связи в этом соединении небольшая его порция была дезацилирована и была определена константа скорости кислотного гидролиза полученного *D*-маннопиранозилфосфата (VIII), как описано в работе [16]. Это позволило идентифицировать соединение (VIII) (а следовательно, и (IIд)) как β -аномер.

2-Ацетамидо-3,4,6-три-*O*-ацетил-2-дезоксид- α -*D*-глюкопиранозилфосфат (IIз) получали из 2-метил-(3,4,6-три-*O*-ацетил-1,2-дидезокси- α -*D*-глюкопирано)[2,1-*d*]-2-оксазолина (IX) и дибензилфосфорной кислоты по описанной методике [17]. Нами обнаружено, что путем обработки указанного оксазолина 3-кратным избытком безводной фосфорной кислоты в абс. тетрагидрофуране удается получить 2-ацетамидо-3,4,6-три-*O*-ацетил-2-дезоксид- β -*D*-глюкопиранозилфосфат (IIж) (схема 3); выход 11,5% после разделения реакционной смеси на DEAE-целлюлозе.

Схема 3



Все полученные защищенные фосфаты сахаров были охарактеризованы данными спектров ^{31}P -ЯМР (см. табл. 1), для соединения (IIд) был получен также спектр ^1H -ЯМР, для соединения (IIж) — спектры ^1H - и ^{13}C -ЯМР.

Условия синтеза морапренилмонофосфатсахаров отрабатывались на примере взаимодействия морапренилтрихлорацетимидата (I) с 2,3,4,6-тетра-*O*-ацетил- β -*D*-глюкопиранозилфосфатом (IIа).

Было найдено, что наилучшие результаты в синтезе фосфодиэфира (IIIа) достигаются при взаимодействии 2,5 экв. трихлорацетимидата морапренола (I) с 1 экв. моно(три-*n*-октиламмониевой) соли гликозилфосфата (IIа) в бензоле при повышенной температуре (77°C , 8 ч). В спектре ^{31}P -ЯМР реакционной смеси помимо сигнала исходного гликозилфосфата ($-0,24$ м.д.) присутствовал единственный сигнал при $-1,28$ м.д., отвечающий фосфодиэфиру. Его интегральная интенсивность соответствовала выходу 70%. При проведении реакции в более полярных сольватирующих растворителях (ТНФ, ацетон) наряду с этим сигналом в спектре ^{31}P -ЯМР присутствовал также сигнал в более сильном поле ($-3,5$ м.д.), отвечающий, вероятно, изомерному фосфоди-

Таблица 1

Спектры ^{31}P -ЯМР защищенных гликозилфосфатов (IIа)–(IIз) и защищенных морапренилмонофосфатсахаров (IIIа)–(IIIз)

Соединение	δ , м. д.	Соединение	δ , м. д.	Соединение	δ , м. д.	Соединение	δ , м. д.
IIа	-0,24	IIд	-1,10	IIIа	-1,28	IIIд	-2,13
IIб	-0,13	IIе	-1,20	IIIб	-1,10	IIIе	-2,14
IIв	-0,26	IIж	-0,23	IIIв	-1,39	IIIж	-1,35
IIг	-0,12	IIз	-0,10	IIIг	-1,08	IIIз	-1,00

Выходы и свойства морапренилмонофосфатсахаров

Исходный гликозил-фосфат	Защищенный фосфодиэфир			Морапренилмонофосфатсахар		
	Шифр	Выход, %	$P_{кл} : Mrg$	Шифр	Выход, %	$P_{кл} : Mrg$
IIa	IIIa	69	1 : 1,20	IVa	99	1 : 1,05
IIб	IIIб	63	1 : 1,23	IVб	98	1 : 1,07
IIв	IIIв	68	1 : 1,15	IVв	98	1 : 1,03
IIг	IIIг	50	1 : 1,10	IVг	98	1 : 1,07
IIд	IIIд	71	1 : 1,10	IVд	97	1 : 1,06
IIе	IIIе	34	1 : 1,20	IVе	98	1 : 1,10
IIж	IIIж	96	1 : 1,24	IVж	98	1 : 1,03
IIз	IIIз	48	1 : 1,07	IVз	98	1 : 1,02

эфиру — продукту аллильной перегруппировки с фосфатной группой у третичного атома углерода (об изменении химических сдвигов в спектрах ^{31}P -ЯМР при переходе от первичных фосфатов к третичным см., например, [18]).

Реакционную смесь разделяли ионообменной хроматографией на DEAE-целлюлозе DE-52 (OAc⁻). Контроль за ходом элюции осуществляли по ТСХ и измерением во фракциях элюата количества кислотолабильного фосфата ($P_{кл}$). В результате был выделен морапренил(2,3,4,6-тетра-О-ацетил- β -D-гликопиранозил)фосфат (IIIa) с выходом 69%. Не вступивший в реакцию ацетилованный β -D-гликопиранозилфосфат (IIa) может быть регенерирован. Соединение (IIIa) было однородно, по данным ТСХ, и имело отношение $P_{кл}$ — морапрениол, близкое к теоретическому (1:1).

Деацетилированием защищенного фосфодиэфира (IIIa) действием метилата натрия в смеси хлороформ — метанол, 2:1, была получена после соответствующей обработки аммониевая соль морапренил(β -D-гликопиранозил)фосфата (IVa) с выходом 98%. В спектре ^{31}P -ЯМР этого соединения наблюдался единственный сигнал при +0,11 м.д. Оно имело хроматографическую подвижность, идентичную с заведомым образцом, и отношение $P_{кл}$ — морапрениол, близкое к теоретическому (1:1).

Аналогичные условия были использованы для синтеза морапренилмонофосфатсахаров — производных α -D-гликопиранозы, β - и α -D-галактопиранозы, β - и α -D-маннопиранозы и β - и α -2-ацетамидо-2-дезоксид-гликопиранозы (IIIб) — (IIIз) (см. табл. 2). Все полученные соединения были однородны при ТСХ, имели отношение $P_{кл}$ — морапрениол, близкое к теоретическому (1:1) и охарактеризованы данными ^{31}P -ЯМР-спектроскопии (табл. 1).

Из приведенных данных видно, что метод носит достаточно общий характер. При этом выход полипренилмонофосфатсахаров с β -конфигурацией гликозилфосфатной связи в выбранных стандартных условиях выше, чем для α -аномеров.

Сопоставление данных спектров ^{31}P -ЯМР исходных ацилированных гликозилфосфатов (моно(три-*n*-октиламмониевые) соли, в хлороформе) и аммониевых солей соответствующих защищенных морапренилмонофосфатсахаров в том же растворителе (табл. 1) показывает, что присоединение остатка морапрениола вызывает сдвиг сигнала атома фосфора в сторону более сильного поля приблизительно на 1 м.д. Как для защищенных гликозилфосфатов, так и для защищенных фосфодиэфиров наблюдаются заметные различия в величине химического сдвига сигналов атома фосфора в зависимости от стереохимии при С-1 и С-2 остатка моносахарида. При D-глико- и D-галакто-конфигурации сигналы β -аномеров смещены в сторону слабого поля по сравнению с сигналами α -аномеров (на 0,11—0,35 м.д. для гликозилфосфатов и на 0,18—0,35 м.д. для полипренилмонофосфатсахаров). При α -конфигурации гликозилфосфатной связи переход от D-глико- к D-манно-конфигурации вызывает смещение в сторону сла-

того поля приблизительно на 1 м.д.; аналогичное сравнение для β -аномеров провести было нельзя из-за различных защитных групп в остатке сахара. Таким образом, спектры ^{31}P -ЯМР в случае производных гликозилфосфатов могут быть полезными не только для установления типа фосфорсодержащего соединения, но и для определения стереохимии при С-1 и С-2 моносахаридного остатка.

Строение морапренилмонофосфатсахаров со свободными гидроксигруппами остатка сахара (соединения (IVа)–(IVз)) было подтверждено результатами их обработки 40% водным фенолом при 70°С (процедура, обычно применяемая для доказательства наличия аллилфосфатной группировки в полипренилфосфосахарах) [19]. В отличие от морапренилпирофосфатсахаров для расщепления монофосфатных производных в этих условиях требуется заметно большее время (1,5 ч вместо 10 мин). При этом из α -аномеров (IVб, IVг, IVе, IVз) образуются соответствующие гликозилфосфаты, идентифицируемые электрофоретически. В случае β -аномеров (IVа, IVв, IVд, IVж) в тех же условиях наряду с фосфатами моносахаридов был идентифицирован неорганический фосфат ($P_{\text{н}}$), возникающий, по-видимому, вследствие частичного гидролиза образующихся β -гликозилфосфатов, причем в случае морапренил(2-ацетиамидо-2-дезоксид- β -D-глюкопиранозил)фосфата (IVж) неорганический фосфат являлся преобладающим продуктом фенольной деградации (электрофоретически соответствующий гликозилфосфат идентифицировался лишь в следовых количествах).

Авторы глубоко благодарны А. В. Игнатенко за съемку спектров ^{31}P -ЯМР.

Экспериментальная часть

Аналитические методики описаны в работе [20]. ТСХ проводили на пластинках (6×2,5 см) с силикагелем (Silica Gel 60, Merck, ФРГ) в системе хлороформ – метанол – вода, 60 : 25 : 4 (А) или хлороформ – метанол – 0,05 М ТЕАВ, 10 : 10 : 3 (Б) или с оксидом алюминия (Aluminium oxid 60, Merck, ФРГ) в системе хлороформ – гексан, 1 : 4 (В), обнаруживая фосфаты реагентом [21] с последующим прокаливанием, а непредельные соединения – парами иода. Электрофорез проводили на бумаге Filtrak FN-16 (ГДР) в 0,05 М ТЕАВ, рН 7,5, обнаруживая фосфаты реагентом [22] и определяя их подвижность относительно α -D-глюкопиранозилфосфата (E_{Glc1P}). Спектры ^1H и ^{13}C -ЯМР снимали на приборе Bruker WM-250 (ФРГ) с рабочей частотой по ^1H 250 МГц, по ^{13}C – 62,89 МГц в CDCl_3 , спектры ^{31}P -ЯМР – на приборе Bruker AM-300 (ФРГ) с рабочей частотой 121,5 МГц в CHCl_3 , химические сдвиги (δ) приведены в миллионных долях, константы спин-спинового взаимодействия – в герцах.

Безводная H_3PO_4 – реактив фирмы Merck (ФРГ). Защищенные гликозилфосфаты (IIа) – (IIз) переводили в моно(три-*n*-октиламмониевые) соли пропусканием водных растворов соответствующих триэтиламмониевых солей через колонку с дауэксом 50W×8(H^+) и прибавлением к элюату 1 экв. триоктиламина с последующим упариванием и лиофильным высушиванием из бензола.

Морапренилтрихлорацетиамидат (I). Раствор 200 мг (260 мкмоль) морапренола [23] в 1 мл гексана прибавляли к 0,9 мл 50% водного раствора NaOH. К смеси добавляли 10 мг (30 мкмоль) тетра-*n*-бутиламмонийбромид и 0,6 мл (6,0 ммоль) трихлорацетонитрила. После интенсивного перемешивания в течение 45 мин добавляли 1 мл гексана и перемешивали еще 20 мин (до исчезновения запаха трихлорацетонитрила и появления запаха аммиака). Реакционную смесь экстрагировали гексаном (3×1 мл), объединенный гексановый экстракт пропускали через колонку (0,5×4 см) с оксидом алюминия, элюируя гексаном. Элюат упаривали досуха. Выход соединения (I) 230 мг (252 мкмоль, 97%), R_f 0,80 (В).

Спектр ^1H -ЯМР (CCl_4 – CDCl_3 , 4 : 1): 8,20 (м, 1H, =NH), 5,48 (тд, 1H, $J_{2,1}$ 7,0, $J_{2,3}$ сд, 1,5, =CH–CH₂O–), 5,10 (м, 10H, CH=), 4,77 (дд, 2H, $J_{1,2}$ 7,0, $J_{1,\text{н}}$ 1,0, –CH₂–O–C(NH)–), 2,16 (с, 2H, –CH₂–C(CH₃)=CH–CH₂–O–), 2,05 (м, 40H, –CH₂–), 1,83 (с, 3H, –C(CH₃)=CH–CH₂–O–), 1,70 (21H, CH₃-цис), 1,62 (12H, CH₃-транс).

4,6-Ди-О-ацетил-2,3-О-карбонил- β -D-маннопиранозилфосфат (IIд). 152 мг (430 мкмоль) 4,6-ди-О-ацетил-2,3-О-карбонил- α -D-маннопиранозилбромид [15] растворяли в 1 мл абс. бензола и прибавляли 125 мг (450 мкмоль) дибензилфосфата и 63 мкл (450 мкмоль) триэтиламина. Смесь выдерживали 30 мин при 20°С, осадок отфильтровывали, промывали бензолом (4×0,5 мл), объединенный фильтрат упаривали досуха. Остаток растворяли в 3 мл хлороформа и фильтровали через колонку с оксидом алюминия (Brockmann II, Reanal, Венгрия), элюируя 1,5 мл хлороформа. Элюат упаривали досуха, остаток растворяли в 5 мл THF и гидрировали над Pd/C в течение 1,5 ч. Катализатор отфильтровывали, к раствору прибавляли триэтиламин до рН 6,0. Раствор упаривали досуха, остаток растворяли в 2 мл смеси бензол – метанол, 3 : 1, и лиофильно высушивали. Выход триэтиламмониевой соли (IIд) 255 мкмоль (60%), R_f 0,10(А), E_{Glc1P} 1,0.

Спектр $^1\text{H-NMR}$: 5,72 (дд, 1H, $J_{1,2}$ 0,8, $J_{1, P}$ 8,7, H-1), 5,34 (дд, 1H, $J_{2,3}$ 5,0, $J_{4,5}$ 7,0, H-4), 5,04 (дд, 1H, $J_{2,1}$ 0,8, $J_{2,3}$ 8,4, H-2), 4,94 (дд, 1H, $J_{3,2}$ 8,4, $J_{3,4}$ 5,0, H-3), 4,30 (дд, 1H, $J_{6,5}$ 4,6, $J_{6,6'}$ 12,5, H-6), 4,23 (дд, 1H, $J_{6',5}$ 3,5, $J_{6',6}$ 12,5, H-6'), 4,07 (ддд, 1H, $J_{5,4}$ 7,0, $J_{5,6}$ 4,6, $J_{5,6'}$ 3,5, H-5), 3,08 (к, CH_2 , NEt_3), 2,15 (с, 3H, OAc), 2,07 (с, 3H, OAc), 1,33 (т, CH_3 , NEt_3).

β -D-Маннопиранозилфосфат (VIII). 5 мкмоль соединения (IIд) (триэтиламмониевая соль) обрабатывали 1 н. NaOH (1 мл) 18 ч при 20° С. Раствор обрабатывали избытком дауэкса 50W×8 (Pu^+), смолу отделяли, фильтрат упаривали досуха. Выход фосфата (VIII) 4,95 мкмоль (98%), R_f 0,00 (A), 0,20 (B), $R_{\text{GLC}} 1,00$ (B), $E_{\text{GLC}} 1,00$, $k=10,3 \cdot 10^{-4}$ с $^{-1}$ ([16]: $k=11,2 \cdot 10^{-4}$ с $^{-1}$ для β -D-маннопиранозилфосфата и $3,9 \cdot 10^{-4}$ с $^{-1}$ для α -аномера).

2-Ацетиламино-3,4,6-три-О-ацетил-2-дезоксид- β -D-глюкопиранозилфосфат (IIж). 110 мг (330 мкмоль) 2-метил-(3,4,6-три-О-ацетил-1,2-дидезокси- α -D-глюкопирано)[2,1-d]-2-оксазолина [17] прибавляли к раствору 108 мг (1,1 ммоль) безводной фосфорной кислоты в 0,8 мл абс. THF. Через 10 ч при 20° С к реакционной смеси прибавляли триэтиламин до pH 5,5 и выдерживали 16 ч при 0° С. Выпавший осадок отфильтровывали, раствор упаривали досуха, остаток растворяли в 5 мл воды и экстрагировали хлороформом (4×3 мл). Водный слой упаривали досуха, остаток растворяли в смеси хлороформ – метанол, 2 : 1, и наносили на колонку (1×8 см) с DEAE-целлюлозой DE-52 (OAc $^-$). Колонку промывали этой же смесью растворителей (20 мл), метанолом (20 мл) и элюировали в линейном градиенте концентрации ацетата аммония в метаноле (0–20 mM, по 50 мл) и далее 0,1 М раствором ацетата аммония в метаноле (50 мл). Разделение контролировали, определяя во фракциях $R_{\text{пл}}$ и по ТСХ. Вещество (IIж) элюировалось при 0,1 М концентрации соли. Фракции, содержащие целевое соединение, объединяли, упаривали досуха, остаток растворяли в 1 мл воды и обессоливали на колонке с фрактогелем TSK-40WH(s) (Merck, ФРГ), промывая колонку водой со скоростью 1 мл/мин (контроль по электропроводности элюата). Фракции, содержащие защищенный фосфат (IIж), объединяли, прибавляли триэтиламин до pH 6,0 и раствор упаривали досуха. Остаток растворяли в смеси 0,2 мл бензола и 0,2 мл метанола и лиофильно высушивали. Выход фосфата (IIж) 32 мкмоль (11,5%), R_f 0,20 (A), $E_{\text{GLC}} 1,0$.

Спектр $^1\text{H-NMR}$: 5,36 (т, 1H, $J_{1,2}=J_{1, P}$ 9,0, H-1), 5,31 (дд, 1H, $J_{3,2}$ 10,2, $J_{3,4}$ 9,4, H-3), 5,11 (т, 1H, $J_{1,3}=J_{4,5}$ 9,4, H-4), 4,28 (дд, 1H, $J_{6,5}$ 4,1, $J_{6,6'}$ 12,3, H-6), 4,14 (дд, 1H, $J_{6',5}$ 2,0, $J_{6',6}$ 12,3, H-6'), 4,13 (дд, 1H, $J_{2,1}$ 9,0, $J_{2,3}$ 10,2, H-2), 3,91 (ддд, 1H, $J_{5,4}$ 9,4, $J_{5,6}$ 4,1, $J_{5,6'}$ 2,0, H-5), 3,98 (к, CH_2 , NEt_3), 2,02 (м, 12H, CH_3CO), 1,33 (т, CH_3 , NEt_3).

Спектр $^{13}\text{C-NMR}$: 170,7 (C=O, OAc, NAc), 96,0 ($J_{C, H}$ 161, C-1), 73,5 (C-5), 72,1 (C-3), 69,2 (C-4), 62,4 (C-6), 54,8 (д, $J_{C, P}$ 5,7, C-2), 46,0 (CH_2 , NEt_3), 20,8 (CH_3CONH), 20,3 (CH_3COO), 8,6 (CH_3 , NEt_3).

Синтез ацилированных мораренил(D-глюкопиранозил)фосфатов (IIIa)–(IIIz). К 25 мкмоль трихлорацетимидата мораренола (I) прибавляли 10 мкмоль моно(три-*n*-октиламмониевой) соли соответствующего ацилированного 1-глюкопиранозилфосфата (IIa)–(IIz) в 0,25 мл абс. бензола. Реакционную смесь выдерживали 8 ч при 77° С, охлаждали, разбавляли 20 мл смеси хлороформ – метанол, 2 : 1, и наносили на колонку (1×7 см) с DEAE-целлюлозой DE-52 (OAc $^-$) (Whatman, Англия), уравновешенной этой же смесью растворителей. Колонку промывали 30 мл смеси хлороформ – метанол (2 : 1), 30 мл метанола и элюировали в линейном градиенте концентрации ацетата аммония в метаноле (0–12,5 mM) со скоростью 40 мл/ч, собирая фракции объемом 4 мл и контролируя разделение по $R_{\text{пл}}$ и ТСХ(A). Фракции, содержащие целевой ацилированный фосфодиэфир (IIIa)–(IIIz), R_f 0,80 (A), объединяли. В случае необходимости полученные растворы обессоливали упариванием метанольного элюата и многократной отгонкой толуола от остатка с последующим метанольным в абс. бензоле и лиофильным высушиванием бензольного раствора.

Удаление ацильных групп из соединений (IIIa)–(IIIz). К аликвоте метанольного элюата, содержащего соответствующее количество ацилированного фосфодиэфира (0,42–0,67 мкмоль), прибавляли 2 мл толуола и упаривали досуха. От остатка отгоняли толуол (2×1 мл) и бензол (1 мл) и растворяли в 0,5 мл смеси хлороформ – метанол, 2 : 1. К раствору прибавляли 50 мкл 2 н. раствора метилата натрия в метаноле. Через 30 мин при 20° С к смеси прибавляли избыток дауэкса 50W×8 (Pu^+) и перемешивали 10 мин. Катионит отфильтровывали, раствор упаривали досуха, отгоняли толуол (2×1 мл), остаток растворяли в смеси хлороформ – метанол, 2 : 1, и обрабатывали избытком дауэкса 50W×8 (NH_4^+). Раствор упаривали досуха, остаток растворяли в абс. бензоле (1 мл). Соединения (IVa)–(IVz) имеют R_f 0,55 (A).

Фенольная деградация мораренил(D-глюкопиранозил)фосфатов (IVa)–(IVz). Аликвоту бензольного раствора (см. выше), содержащую 0,3 мкмоль фосфодиэфира (IVa)–(IVz), обрабатывали 50 мкл 80% водного фенола и концентрировали. К остатку прибавляли 50 мкл воды и смесь нагревали 1,5 ч при 70° С. После охлаждения до 20° С водный слой отделяли, промывали четыреххлористым углеродом (4×50 мкл) и анализировали электрофорезом на бумаге. Образующиеся глюкониранозилфосфаты имели $E_{\text{GLC}} 1,00$, неорганический фосфат – 1,25.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шубаев В. Н. // Прогресс химии углеводов/Ред. Торгов И. В. М.: Наука, 1985. С. 149–173.
2. Шубаев В. Н. // Успехи биол. химии. 1982. Т. 23. С. 61–101.
3. Warren C. D., Jeanloz R. W. // Meth. Enzymol. 1978. V. 50. P. 122–137.

4. Yamasaki T., Laske D. W., Herscovics A., Warren C. D., Jeanloz R. W. // Carbohydr. Res. 1983. V. 120. P. 159-170.
5. Данилов Л. Л., Дружинина Т. Н., Шibaев В. Н., Кочетков Н. К. // Биооргани. химия. 1980. Т. 6. № 3. С. 468-470.
6. Себякин Ю. Л., Русанова Е. Е., Волкова Л. В., Евстигнеева Р. П. // Химия природ. соедин. 1982. № 2. С. 246.
7. Мальцев С. Д., Данилов Л. Л., Шibaев В. Н., Кочетков Н. К. // Биооргани. химия. 1985. Т. 11. № 1. С. 138-139.
8. Bondini A., Cardillo G., Orena M., Sandri S., Tomasini C. // J. Org. Chem. 1986. V. 51. № 25. P. 4905-4910.
9. MacDonald D. L. // Meth. Enzymol. 1966. V. 8. P. 121-125.
10. Warren C. D., Jeanloz R. W. // Biochemistry. 1972. V. 11. № 14. P. 2565-2573.
11. Salam M. A., Behrman E. J. // Carbohydr. Res. 1981. V. 90. № 1. P. 83-89.
12. Себякин Ю. Л., Волкова Л. В., Русанова Е. Е., Евстигнеева Р. П. // Журн. орган. химии. 1979. Т. 15. № 10. С. 2228-2229.
13. Prihar H. S., Behrman E. J. // Carbohydr. Res. 1972. V. 23. № 2. P. 456-459.
14. Шibaев В. Н., Уткина Н. С., Данилов Л. Л., Елисеева Г. И. // Биооргани. химия. 1980. Т. 6. № 12. С. 1778-1781.
15. Betaneli V. I., Ovchinnikov M. V., Backinowsky L. V., Kochetkov N. K. // Carbohydr. Res. 1980. V. 84. P. 211-224.
16. Данилов Л. Л., Уткина Н. С., Шibaев В. Н. // Биооргани. химия. 1980. Т. 6. № 5. С. 780-782.
17. Khorlin A. Ya., Zurabyan S. E., Antonenko V. S. // Tetrahedron Lett. 1970. № 55. P. 4803-4804.
18. Glonek T., van Wazer J. R., Myers T. C. // Phosphorus Sulfur. 1977. V. 3. № 2. P. 137-150.
19. Garcia R. S., Recondo E., Dankert M. // Eur. J. Biochem. 1974. V. 43. № 1. P. 93-105.
20. Danilov L. L., Maltsev S. D., Shibaev V. N., Kochetkov N. K. // Carbohydr. Res. 1981. V. 88. № 2. P. 203-211.
21. Vaskovskiy V. E., Kostetsky E. Y., Vasendin I. M. // J. Chromatogr. 1975. V. 114. № 1. P. 129-141.
22. Hanes C. S., Isherwood F. A. // Nature. 1949. V. 164. № 4183. P. 1107-1109.
23. Вергунова Г. И., Глуходед И. С., Данилов Л. Л., Елисеева Г. И., Кочетков Н. К., Троицкий М. Ф., Усов А. И., Шашков А. С., Шibaев В. Н. // Биооргани. химия. 1977. Т. 3. № 11. С. 1484-1492.

Поступила в редакцию
22.V.1987

EFFECTIVE SYNTHESIS OF MORAPRENYL MONOPHOSPHATE SUGARS

MAL'TSEV S. D., DANILOV L. L., SHIBAEV V. N.

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

Polyprenyl monophosphate sugars including derivatives of α - and β -anomers of *D*-glucopyranose, *D*-galactopyranose, *D*-mannopyranose and 2-acetamido-2-deoxy-*D*-glucopyranose were prepared in high yields from moraprenyl trichloroacetimidate and acylated glycosyl phosphates followed by deprotection. The phase-transfer catalysis was used for polyprenyl trichloroacetimidate synthesis. 4,6-Di-O-acetyl-2,3-O-carbonyl- β -*D*-mannopyranosyl phosphate was synthesized in 60% yield from 4,6-di-O-acetyl-2,3-O-carbonyl- α -*D*-mannopyranosyl bromide and triethylammonium dibenzyl phosphate. The reaction of 2-methyl-(3,4,6-tri-O-acetyl-1,2-dideoxy- α -*D*-glucopyranose) [2,1-*d*]-2-oxazoline with anhydrous H_3PO_4 was performed to prepare 2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-deoxy- β -*D*-glucopyranosyl phosphate.