



УДК 547.458.2'466:23'466.64.057

СИНТЕЗ УРОНАМИДНЫХ АНАЛОГОВ N-АЦЕТИЛМУРАМОИЛ-L-АЛАНИЛ-D-ИЗОГЛУТАМИНА

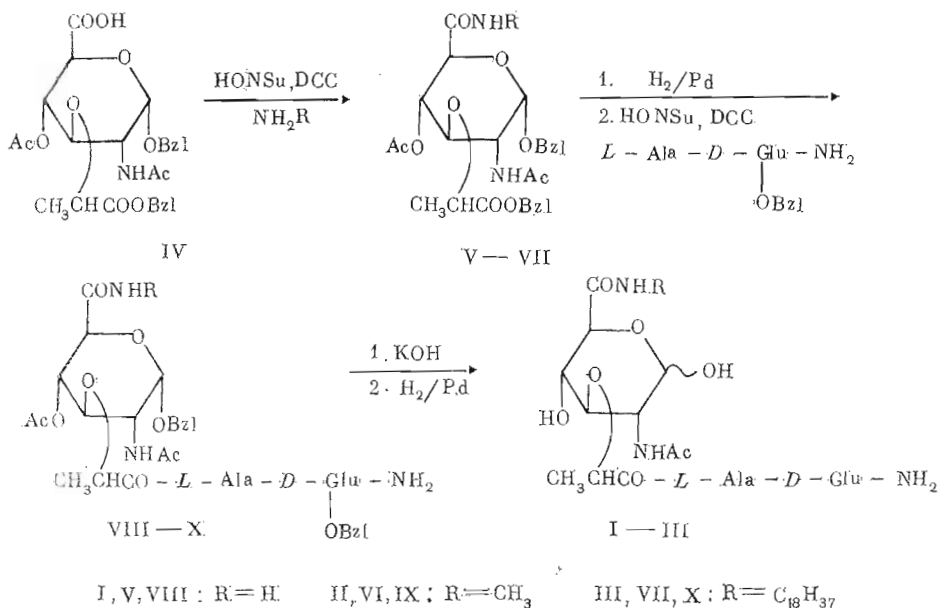
Земляков А. Е., Чирва В. Я.

Симферопольский государственный университет им. М. В. Фрунзе

Осуществлен синтез уронамидных аналогов N-ацетилмурамоил-L-аланил-D-изоглутамина. Взаимодействием уронового производного бензилового эфира α -бензил-4-O-ацетил-N-ацетилмурамовой кислоты с аммиаком, метил- или октадециламинами получили соответствующие уронамиды. Селективным гидрогенолизом бензиловых эфиров в этих соединениях с последующей конденсацией с L-Ala-D-Glu(OBzl)-NH₂ синтезировали гликопептиды. Защитные группы удалили щелочным гидролизом и каталитическим гидрогенолизом.

С целью изучения взаимосвязи между строением производных N-ацетилмурамоил-L-аланил-D-изоглутамина (мурамоилдипептид, MDP) и их биологической активностью нами был получен уроновый аналог MDP [1]. Наличие карбоксильной группы в углеводной части молекулы позволяет осуществлять различные функциональные модификации, в том числе синтезировать потенциально активные липофильные производные мурамоилдипептида. Липофильные гликопептиды интересны своими противоопухолевыми и антибактериальными свойствами [2]. Кроме того, они важны для получения липосом, содержащих адъюванты [3].

В настоящей работе описывается синтез уронамидных аналогов N-ацетилмурамоил-L-аланил-D-изоглутамина (I)–(III) (схема). Ключевое производное – уроновая кислота (IV) была получена окислением бензилового эфира α -бензилгликозида 4-O-ацетил-N-ацетилмурамовой кислоты [1, 4] хромовым ангидридом в серной кислоте. Карбоксильную группу в соединении (IV) активировали с помощью N-гидрокси-сукцинимид (HONSu) и N,N'-дициклогексилкарбодимида (DCC) и обрабатывали аммиаком, метил- и октадециламинами соответственно. Уронамиды (V)–(VII) были получены с выходами, близкими к количественному. В ПМР-спектрах этих



ПМР-спектры соединений (V)–(VII) (м.д.) *

Группа	(V)	(VI)	(VII)
NAc	1,76с	2,01с	2,00с
OAc	2,01с	2,13с	2,12с
H-1	4,87д (3,5 Гц)	5,52д (3 Гц)	5,52д (3 Гц)
H-2	3,97м	3,85к	3,84м
H-3	3,78т	3,89т	3,89т
H-4	4,96т	5,07т	5,07т
H-5	3,95д	4,10д	4,07д
CH ₃ CH (<i>J</i> _{CH₃, CH)}	1,20д; 4,39к (7 Гц)	1,39д; 4,39к (7 Гц)	1,37д; 4,37к (7 Гц)
OCH ₂ Ph (<i>J</i> _{gem})	4,49д; 4,69д (12 Гц)	4,53д; 4,65д (12 Гц)	4,52д; 4,65д (12 Гц)
COOCH ₂ (<i>J</i> _{gem})	5,07т (12 Гц)	5,15д; 5,26д (12 Гц)	5,15д; 5,25д (12 Гц)
CONHR	7,24с; 7,49с	2,79д; 6,40к	0,89г; 1,21м; 6,39т
Ph	7,32–7,39м	7,28–7,37м	7,28–7,36м
NH	7,93д	7,81д	7,81д

* Рабочая частота 500 МГц. Спектр соединения (V) снимали в DMSO-*d*₆, (VI), (VII) — в C²HCl₃.

соединений присутствуют сигналы амидных групп: два синглета для амида, трехпротонный дублет и однопротонный квартет для метиламида, триплет концевой метильной группы, мультиплет метиленовых протонов и триплет амидного водорода для октадециламида (табл. 1), что согласуется с их строением.

Сложноэфирные бензильные группы в соединениях (V)–(VII) удаляли каталитическим гидронолизом. Полученные производные мурамовой кислоты затем конденсировали с γ -бензиловым эфиром трифторацетата *L*-аланил-*D*-изоглутамина, используя HONSO₂, DCC в качестве активирующих агентов. Гликопептиды (VIII)–(X) были выделены колоночной хроматографией с выходами 78–86%. В ПМР-спектрах этих веществ наблюдаются сигналы метильной группы аланина, γ -метиленовой группы остатка изоглутамина и метиленовых протонов бензилового эфира (табл. 2), что подтверждает введение дипептидных фрагментов.

Сложноэфирные защитные группы соединений (VIII)–(X) удаляли 1 н. КОН, а бензилгликозидные подвергли гидронолизу. Удаление защитных групп подтверждено ИК- и ПМР-спектрами (табл. 2, 3).

Экспериментальная часть

Температуры плавления определяли на приборе ПТП (СССР), оптическое вращение при 20°С — на поляриметре Polamat-A (ГДР). Спектры ПМР получены на спектрометрах Varian XL-100 (100 МГц) и Bruker WM-500 (500 МГц), внутренний стандарт — (CH₃)₄Si. ИК-спектры записаны на спектрофотометре Specord IR-75 (ГДР, таблетки KBr). ТСХ проводили на пластинках Silufol UV-254 (ЧССР) в системах растворителей: хлороформ — этанол, 15:1 (А); хлороформ — этанол, 10:1 (Б) и на пластинках Kieselgel 60F-254 (Merck, ФРГ) в системах растворителей: бутанол — уксусная кислота — вода, 2:1:1 (В); бутанол — пиридин — вода, 2:1:1 (Г); бутанол — уксусная кислота — вода, 3:1:1 (Д). Вещества обнаруживали обугливанием при 400°С (Silufol) или 10% раствором H₂SO₄ в этаноле с последующим нагрева-

ПМР-спектры соединений

Соединение	NAc	OAc	CH ₂ CH (<i>J</i> _{CH₃, CH})	γ -CH ₂ Glu-NH ₂
VIII	1,72с	1,95с	1,08д; 1,16д (7 Гц)	2,28т
IX	1,72с	1,95с	1,08д; 1,16д (7 Гц)	2,30т
X	1,84с	1,98с	1,08–1,23м	2,34т
I	1,87с		1,23д; 1,27д (7 Гц)	2,12г
II	1,97с		1,42д; 1,44д (7 Гц)	2,32т
III	1,82с		1,16–1,32м	2,09т

* Рабочая частота для соединений (VIII) и (X) 100 МГц, для остальных — 500 МГц; раст

Выходы, физико-химические константы и характеристические частоты (см⁻¹) ИК-спектров синтезированных соединений

Соединение	Выход, %	Т. пл., °С	[α] _D ²⁰ , град (с; растворитель)	ν, см ⁻¹					R _f (система)
				ОН, NH ₂ , NH	CH ₂	сложный эфир	амид	Ph	
IV	88	198–199	+138 (1,0; CHCl ₃)	3300		1730	1660	730	0,40 (А)
V	100	211–213	+127 (0,88; DMF)	3400, 3340, 3180		1250 1750	1540 1660	690 730	0,40 (А)
VI	97	228–234	+113 (0,85; CHCl ₃)	3280		1240 1750	1550 1660	695 730	0,45 (А)
VII	93	183–185	+77 (0,77; CHCl ₃)	3250	2910, 2840	1230 1740	1570 1640	695 710	0,82 (А)
VIII	86		+85 (0,67; AcOH)	3370, 3280		1220 1720	1550 1640	690 720	0,28 (Б)
IX	78		+85 (0,38; DMF)	3380, 3270		1210 1730	1520 1650	680 730	0,40 (Б)
X	83		+87 (1,13; DMF)	3370, 3270	2910, 2840	1220 1730	1530 1640	690 730	0,64 (Б)
I	68		+29 (1,11; EtOH)	3380–3250			1640 1530		0,24 (В)
II	89		+29 (0,77; EtOH)	3400–3260			1650 1530		0,14 (Г)
III	70		+19 (0,73; EtOH)	3400–3250	2910, 2850		1640 1550		0,27 (Д)

нием до 150° С (Kieselgel). Колопочную хроматографию проводили на промытом силикагеле L 100–250 мкм (УССР). Данные элементного анализа для всех соединений соответствуют расчетным значениям. Выходы, физико-химические константы и ИК-спектры синтезированных соединений приведены в табл. 3.

Бензил-2-ацетамидо-4-О-ацетил-3-О-[D-1-(бензилоксикарбонил)этил]-2-дезоксид-α-D-глюкопиранозидуроновая кислота (IV).

К раствору 3,1 г (6,0 ммоль) бензил-2-ацетамидо-4-О-ацетил-3-О-[D-1-(бензилоксикарбонил)этил]-2-дезоксид-α-D-глюкопиранозида [1,4] в 50 мл ацетона (при перемешивании и охлаждении льдом добавляли порциями 7 мл раствора 1,6 г (16,0 ммоль) CrO₃ в 3,5 М H₂SO₄. Смесь выдерживали 10 мин при температуре ≤5° С и 50 мин при 20° С. Реакционную смесь разбавляли 50 мл воды и экстрагировали хлороформом (3×50 мл). Органический слой промывали водой (3×10 мл), сушили Na₂SO₄ и упаривали. Кристаллизацией из хлороформа получили 2,7 г (88%) кислоты (IV).

Бензил-2-ацетамидо-4-О-ацетил-3-О-[D-1-(бензилоксикарбонил)этил]-2-дезоксид-α-D-глюкопиранозидуронамид (V). К раствору 1,0 г (1,89 ммоль) кислоты (IV) в смеси 50 мл диоксана и 1 мл DMF при перемешивании и охлаждении льдом внесли 0,25 г (2,17 ммоль) HONSu и 0,47 г (2,27 ммоль) DDC. Через 2 ч осадок N,N'-дихлорогексилмочевинный отфильтровывали и промывали 10 мл диоксана. К объединенному фильтрату при перемешивании приливали 0,16 мл (2,04 ммоль) 25% водного раствора аммиака и перемешивали 1 ч. Реакционную смесь упаривали, остаток растворяли в 150 мл хлороформа и промывали водой (3×50 мл). Органический слой сушили Na₂SO₄ и упаривали. Выход амида (V) 1,0 г (100%).

Аналогично, действуя на активированный эфир 0,14 г (2,03 ммоль) гидрохлорида метиламина в присутствии 0,28 мл (2,03 ммоль) триэтиламина или соответственно 0,60 г (2,22 ммоль) октадециламина (время реакции 12 ч), получили уропметиламид (VI) и уроноктадециламид (VII).

Бензиловый эфир О-(бензил-2-ацетамидо-4-О-ацетил-2-дезоксид-α-D-глюкопира-

Таблица 2

(I)–(III) и (VIII)–(X) (м.д.) *

H-1 (J _{1,2})	OCH ₂ Ph (J _{геМ})	COOCH ₂	Ph	R
4,80д (3 Гц)	4,47д; 4,60д (12 Гц)	5,02с	7,20м	
4,82д (3 Гц)	4,43д; 4,63д (12 Гц)	5,03с	7,30м	2,51д
4,82д (3 Гц)	4,41д; 4,65д (12 Гц)	5,04с	7,29м	0,84т; 1,08–1,23м
				2,77д
				0,87т; 1,16–1,32м

зоры в DMSO-d₆ (соединение (II) в C₂H₅O²H).

нозидуроами́д-3-ил)-D-лактоил-L-аланил-D-изоглутами́на (VIII). 0,53 г (1,0 ммоль) ами́да (V) растворяли в 60 мл смеси диоксан — этанол — вода (10 : 1 : 1) и гидрировали 1,5 ч при 20°С над 0,2 г 10% Pd/C. Катализатор отфильтровывали, промывали 10 мл диоксана, фильтрат упаривали. Полученную кислоту растворяли в 55 мл смеси диоксан — DMF (10 : 1) и при охлаждении льдом добавляли 0,14 г (1,2 ммоль) HONSu и 0,26 г (1,25 ммоль) DDC. Через 3 ч осадок дидиклогексилмочевинны отфильтровывали и промывали 10 мл смеси диоксан — DMF (10 : 1). К фильтрату прибавляли 0,46 г (1,1 ммоль) γ -бензилового эфира трифторацетата L-аланил-D-изоглутами́на [5] и 0,15 мл триэтиламина. Реакционную смесь перемешивали 24 ч, затем упаривали до $\frac{1}{3}$ первоначального объема и разбавляли 100 мл эфира. Выпавший осадок очищали колоночной хроматографией (хлороформ \rightarrow хлороформ — этанол, 10 : 1). Получали 0,62 г (86%) аморфного соединения (VIII).

Вышеописанным способом синтезировали защищенные гликопептиды (IX) и (X).

O-(2-Ацетамидо-2-дезоксид - D - глюкопирануроами́д-3-ил)-D-лактоил-L-аланил-D-изоглутами́н (I). К суспензии 0,30 г (0,41 ммоль) соединения (VIII) в 20 мл этанола добавляли 0,9 мл 1 н. КОН и перемешивали 12 ч. Раствор нейтрализовали катионом КУ-2 (H⁺), смолу отфильтровывали и промывали 10 мл этанола. К объединенному фильтрату добавляли 0,3 г 10% Pd/C и гидрировали 72 ч (температура бани 35–37°С). Катализатор отфильтровывали и промывали 10 мл этанола. Раствор упаривали, а остаток очищали колоночной хроматографией (этилацетат \rightarrow этанол). Получали 0,14 г (68%) гликопептида (I). Аналогично были синтезированы соединения (II) и (III).

ЛИТЕРАТУРА

1. Земляков А. Е., Курьянов В. О., Чирва В. Я., Хорлин А. Я. // Биоорган. химия. 1986. Т. 12. № 7. С. 929–933.
2. Adam A., Petit J.-F., Lefrancier P., Lederer E. // *Molecul. Cell. Biochem.* 1981. V. 41. P. 27–47.
3. Kotani S., Kinoshita F., Morisaki I., Shimono T., Okunaga T., Takada H., Tsujimoto M., Watanabe Y., Kato K., Shiba T., Kusumoto S., Okada S. // *Biken J.* 1977. V. 20. № 3–4. P. 95–103.
4. Osawa T., Sinay P., Halford M., Jeanloz R. W. // *Biochemistry.* 1969. V. 8. № 8. P. 3369–3375.
5. Ростовцева Л. И., Андропова Т. М., Малькова В. П., Сорокина И. Б., Иванова В. Т. // Биоорган. химия. 1981. Т. 7. № 12. С. 1843–1858.

Поступила в редакцию:
16.11.1988.

SYNTHESIS OF N-ACETYLMURAMOYL-L-ALANYL-D-ISOGLUTAMINE URONAMIDE DERIVATIVES

ZEMLYAKOV A. E., CHIRVA V. Ya.

M. V. Frunze Simferopol State University

Uronamide analogues of N-acetylmuramoyl-L-alanyl-D-isoglutamine have been synthesized. The corresponding uronamides were obtained by interaction of the uronic derivative of α -benzyl-4-O-acetyl-N-acetylmuramic acid benzyl ester with ammonia, methyl- or octadecylamine. Selective hydrogenolysis of benzyl esters and subsequent coupling with L-Ala-D-Glu(OBzl)-NH₂ led to glycopeptides. The protecting groups were removed by alkaline hydrolysis and catalytic hydrogenolysis.