

Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернацкого  
Серия «Биология, химия». Том 19 (58). 2006 . № 2. С. 94-99.

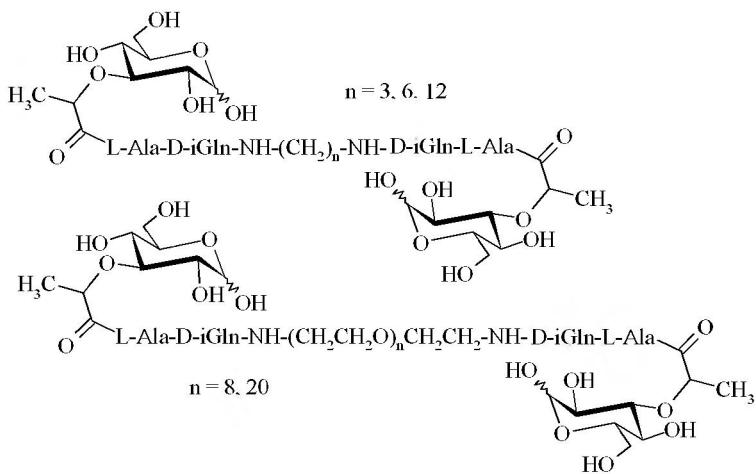
УДК 547.455.623'233.1

## СИНТЕЗ БИС-*N*-АЦЕТИЛГЛЮКОЗАМИНИДОВ

Земляков А.Е., Земляков С.А., Курьянов В.О., Чирея В.Я.

В качестве модельных соединений для изучения различных углеводсодержащих комплексов, а также в качестве потенциальных лекарственных препаратов широко используются ди- и олигомеры углеводов, соединенные посредством неуглеводной структуры – спейсера [1 – 6]. В качестве спейсеров обычно используются полиметиленовые цепи, пептиды, липиды, краун-эфиры, ароматические соединения и т.п.

В свою очередь и спейсерированные димеры сахаров могут являться синтонами при синтезе более крупных молекул. В частности, димерные производные *N*-ацетилглюказамина могут послужить исходным соединением для получения димеров *N*-ацетилмурамоил-*L*-аланил-*D*-изоглутамина (мурамоилдипептида, MDP). Известно, что полученные на основе глюказного аналога MDP гликопептидные димеры со спейсерами олигометилендиаминой и  $\alpha,\omega$ -диаминополиэтиленгликольной природы стимулируют активность макрофагоподобных клеток лучше мономерных структур [7]. Предполагается, что такие конъюгаты, взаимодействуя с рецепторами, способны связывать рецепторы в блоки и кластеры и тем самым усиливать «сигнал».



## **СИНТЕЗ БИС-*N*-АЦЕТИЛГЛЮКОЗАМИНИДОВ**

---

Одним из возможных вариантов структур димерных мурамоилдипептидов являются *bis*-*O*-гликозидные производные. Предположительно на биологическую активность этих гликопептидов может оказывать влияние как длина спейсера, так и его природа. Целью наших исследований является разработка методов получения ключевых синтонов синтеза димерных мурамоилдипептидов – *bis-N*-ацетилглюкозаминидов с агликонами различного строения.

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Температуры плавления определяли на приборе ПТП, оптическое вращение при 18–20 °C – на поляриметре Polamat-A ( $\lambda$  546 нм). Спектры  $^1\text{H}$ -ЯМР получены на приборах Varian VXR-300 (300 МГц) и Varian Mercury 400 (400 МГц), внутренний стандарт –  $\text{Me}_4\text{Si}$ . Приведены химические сдвиги ( $\delta$ -шкала) и константы спин-спинового взаимодействия ( $J$ , Гц).

TCX проводили на пластинках Sorbfil-АФВ-УФ («Сорбполимер», Россия). Вещества обнаруживали 2% раствором серной кислоты в бутаноле-1 с последующим нагреванием при 200–300 °C. Использовали системы растворителей: диэтиловый эфир – пропанол-2, 19:1 (A), хлороформ – пропанол-2, 15:1 (B). Колоночную хроматографию (КХ) проводили на силикагеле Merck 230–400 меш.

В работе использовали этиленгликоль, бутандиол-1,4 («AppliChem», Германия), октандиол-1,8 и 1,4-бензодиметанол (Lancaster), 2,2’-(1,2-фенилендиокси)диэтанол (синтезирован в ФХИ им. А. В. Богатского НАН Украины).

Используемые в работе растворители очищены по стандартным методикам.

### **Гликозилирование оксазолиновым методом.**

К раствору 2-метил-(3,4,6-три-*O*-ацетил-1,2-дизокси- $\alpha$ -D-глюкопирано)-[2,1-*d*]-2-оксазолина (**1**) [8] в сухом дихлорэтане (10 мл/г) добавляли спирт в соотношении 1 : 2-3 по отношению к оксазолину и 20-30 мг безводной TsOH. Реакцию проводили при температуре бани ~100°C до полного разложения оксазолина (контроль ТСХ в системах А, Б). Реакционную смесь нейтрализовывали 100 мкл пиридина и упаривали. Остаток очищали КХ или кристаллизацией. Таким образом были синтезированы:

(2-Гидроксиэтил)-2-ацетамидо-3,4,6-три-*O*-ацетил-2-дезокси- $\beta$ -D-глюкопиранозид (**2**) получили гликозилированием 0.60 мл (10,8 ммоль) этиленгликоля 5,0 г (15,2 ммоль) оксазолина **1** с последующей очисткой КХ (элюент: хлороформ → хлороформ – изопропиловый спирт, 5:1). Выход гликозида **2** – 1,33 г (32 %); т. пл. 146-149°C,  $[\alpha]_{546}$  - 15° (с 1,0; хлороформ).

1,2-бис-(2-Ацетамидо-3,4,6-три-*O*-ацетил-2-дезокси- $\beta$ -D-глюкопиранозилокси)этан (**3**) синтезировали гликозилированием 2,3 г (5,9 ммоль) производного **2** 4,41г (11,8 ммоль) оксазолина **1** с последующей кристаллизацией из изопропилового спирта. Выход гликозида **3** – 1,41 г (33%); т. пл. 244-247°C,  $[\alpha]_{546}$  - 29° (с 1,0; хлороформ).

(4-Гидроксибутил)-2-ацетамидо-3,4,6-три-*O*-ацетил-2-дезокси- $\beta$ -D-глюкопиранозид (**4**) и 1,4-бис-(2-ацетамидо-3,4,6-три-*O*-ацетил-2-дезокси- $\beta$ -D-глюкопиранозилокси)бутан (**5**) были получены гликозилированием 0,29 г (3,22 ммоль) бутандиола-1,4 4,32 г (13,1 ммоль)

оксазолина **1**. КХ (элюент: хлороформ → хлороформ - изопропиловый спирт, 20:1) выделили 250 мг соединения **4** ( $^1\text{H}$ -ЯМР – таблица 1) и смесь гликозидов **4** и **5**. Кристаллизацией смеси из изопропилового спирта получили 420 мг (17 %) димера **5**, который дополнительно затерли в диэтиловом эфире: т. пл. 232–236°C,  $[\alpha]_{546} -10^\circ$  (с 1.0; хлороформ).

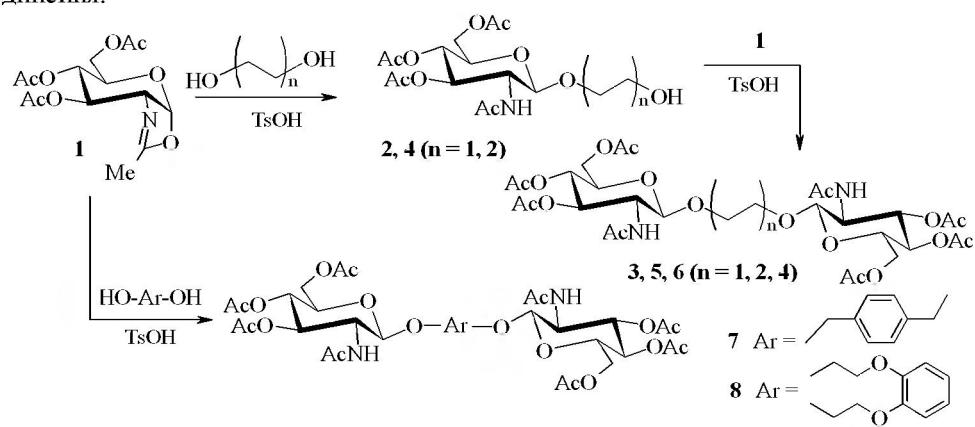
*1,8-бис-(2-Ацетамидо-3,4,6-три-O-ацетил-2-дезокси- $\beta$ -D-глюкопиранозилокси)октан* (**6**) получили гликозилированием 0,30 г (2,05 ммоль) октандиола-1,8 2,0 г (6,15 ммоль) оксазолина **1** и последующей кристаллизацией из изопропилового спирта. Выход гликозида **6** – 1,34 г (82%); т. пл. 208–212°C,  $[\alpha]_{546} -17^\circ$  (с 1.0; хлороформ).

*1,4-бис-[2-Ацетамидо-3,4,6-три-O-ацетил-2-дезокси- $\beta$ -D-глюкопиранозилокси]-метилбензол* (**7**) синтезировали гликозилированием 0,54 г (3,4 ммоль) 1,4-бензодиметанола 3,0 г (9,12 ммоль) оксазолина **1**. Выход гликозида **7** – 1,0 г (37%); т. пл. 265–269°C,  $[\alpha]_{546} +92^\circ$  (с 1.0; диметилсульфоксид).

*1,2-бис-[2-(2-Ацетамидо-3,4,6-три-O-ацетил-2-дезокси- $\beta$ -D-глюкопиранозилокси)-этокси]бензол* (**8**) получили гликозилированием 0,20 г (1,01 ммоль) 2,2’-(1,2-фенилендиокси)диэтанола 0,80 г (2,15 ммоль) оксазолина **1**. Выход гликозида **8** – 0,245 г (28%); т. пл. 203–206°C,  $[\alpha]_{546} -6^\circ$  (с 1.0; хлороформ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для получения димерных гликозидов *N*-ацетилглюказамина в качестве агликонов были использованы  $\alpha, \omega$ -алкандиолы. В случае этиленгликоля и тетраметиленгликоля гликозилирование с использованием даже избытка 2–3 кратного оксазолина **1** преимущественно приводило к образованию смеси продуктов моногликозилирования и дигликозилирования **2** и **3** или **4** и **5** соответственно. Для аналитических целей колоночной хроматографии смеси гликозидов были разделены на индивидуальные соединения.



## СИНТЕЗ БИС-Н-АЦЕТИЛГЛЮКОЗАМИНИДОВ

---

Строение гликозидов **2–5** доказано  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектроскопией (см. рис. 1,2 и таблицу). Спектры этих соединений во многом аналогичны. Сделано отнесение сигналов протонов углеводного фрагмента и агликона.

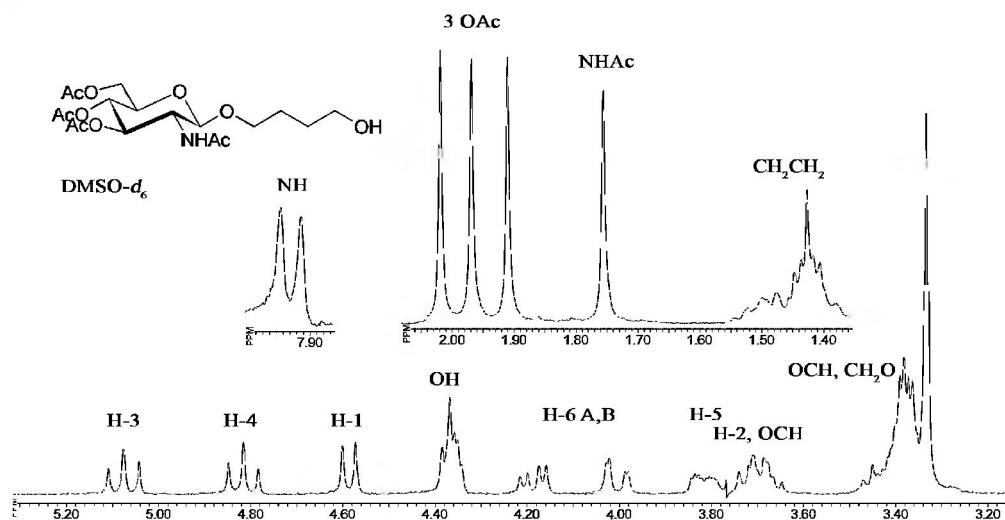


Рис.1.  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр гликозида **4**

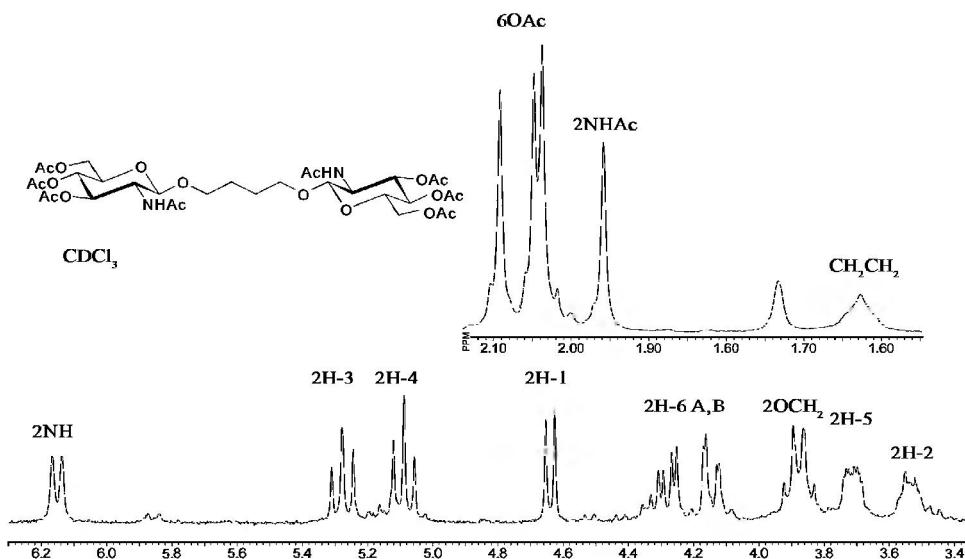


Рис.2.  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр гликозида **5**

**1,2-транс**-Конфигурация D-глюкозаминидов подтверждается присутствием в спектрах этих соединений дублетов аномерных протонов с ХС 4.58-4.79 м.д. и КССВ 8.5 Гц. В спектрах димеров **3** и **5** по сравнению с моногликозидами **2** и **4** наблюдается удвоенное соотношение интенсивности сигналов протонов гликозидного остатка к протонам агликона, а структура самих спектров димеров свидетельствует об идентичности двух фрагментов. Для получения препаративных количеств *бис*-O-гликозидов в дальнейшем колоночной хроматографией выделяли смесь продуктов гликозилирования, которую действием избытка оксазолина **1** переводили в димерные продукты **3** и **5**.

В случае октандиола-1,8 гликозилирование 3-х кратным избытком оксазолина **1** сразу приводит к образованию димера **6**, который выпадает из реакционной смеси. Выход *бис*-O-гликозида после кристаллизации из изопропилового спирта достигает 82%. <sup>1</sup>Н-ЯМР-спектр гликозида **6** подобен спектрам димеров **3** и **5** (см. таблицу).

**Таблица.**  
**<sup>1</sup>Н-ЯМР-спектры гликозидов 2-8\***

Группа или атом	Химические сдвиги, м.д. (КССВ, Гц)						
	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>
H1 ( <i>J</i> <sub>1,2</sub> )	4.70д (8.5)	4.79д (8.5)	4.58д (8.5)	4.64д (8.5)	4.72д (8)	4.65д (8.5)	4.94д (8.5)
H2 ( <i>J</i> <sub>2,3</sub> )	3.93ddd (10)	3.86ddd (10)	3.70м (9.5)	3.88ddd (9.5)	3.81ddd (10)	3.90ddd (10)	3.96-4.27м (10.5)
H3 ( <i>J</i> <sub>3,4</sub> )	5.23dd (10)	5.32dd (9.5)	5.08dd (10)	5.28dd (10)	5.34dd (9.5)	5.22dd (10)	5.26dd (9.5)
H4 ( <i>J</i> <sub>4,5</sub> )	5.07dd (9.5)	5.07dd (10)	4.82dd (10)	5.09dd (9.5)	5.07dd (9.5)	5.06dd (9.5)	5.04dd (9.5)
H5 ( <i>J</i> <sub>5,6a</sub> ; <i>J</i> <sub>5,6b</sub> )	3.85ddd (2.5; 5)	3.70ddd (2.5; 5)	3.82ddd (2.5; 5.5)	3.71ddd (2.5; 5)	3.72ddd (2.5; 5)	3.66ddd (2.5; 5)	3.76ddd (2.5; 5)
H6a,b ( <i>J</i> <sub>6a,6b</sub> )	4.17дд, (12)	4.12дд, (12)	4.00дд, (12)	4.21дд, (12)	4.13дд, (12)	4.16дд, (12)	3.96-4.27м (12)
NAc, OAc	1.97с, 2.04с, 2.05с, 2.10с	2.00с, 2.03с, 2.04с, 2.09с	1.76с, 1.91с, 1.97с, 2.02с	1.96с, 2.04с, 2.05с, 2.09с	1.95с, 2.03с, 2.04с, 2.09с	1.88с, 2.00с, 2.01с, 2.09с	1.72с, 2.02с, 2.03с, 2.08с
NH ( <i>J</i> <sub>2,NH</sub> )	5.90уд	6.28д (9)	7.93д (9.5)	6.15д (8.5)	6.05д (8.5)	5.68д (9)	6.39д (9)
C1-OCH <sub>2</sub>	3.73м, 3.84м	3.80м	3.46дт, 3.70м	3.54дт, 3.88дт	3.46дт, 3.90дт	4.59д, 4.86д	3.96-4.27м
CH <sub>2</sub> OH	3.73м	-	3.38м	-	-	-	-
CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub>	-	-	1,38- 1,53м	1,63м	1,28м, 1,53м	-	3.96-4.27м
CH <sub>аром</sub>	-	-	-	-	-	7.26д	6.87-6.90

Растворитель – C<sup>2</sup>HCl<sub>3</sub>, для соединений **3** и **4** – DMSO-d<sub>6</sub>. Рабочая частота – 300 МГц. для соединений **7** и **8** – 400 МГц.

## **СИНТЕЗ БИС-Н-АЦЕТИЛГЛЮКОЗАМИНИДОВ**

---

Аналогично протекает гликозилирование бифункциональных ароматических спиртов: 1,4-бензодиметанола и 2,2'-(1,2-фенилендиокси)дизетанола. Соответствующие димеры **7** и **8** выпадают из реакционной смеси, что также облегчает их выделение и очистку. Димерная структура бис-*O*-глюкозаминидов **7** и **8** однозначно следует из их <sup>1</sup>Н ЯМР-спектров (см. таблицу). Характер расщепления ароматических протонов соответствует *пара*- и *ортого*-расположению заместителей в бензольном фрагменте.

### **ВЫВОДЫ**

Оксазолиновым методом осуществлен синтез перацетатов этилен-, тетраметилен-, октаметилен-, *n*-фенилендиметил- и *o*-фенилендиоксиэтил-бис- $\beta$ -D-*N*-ацетилглюкозаминидов.

### **Список литературы**

1. Bergh A., Bhattacharyya S., Nilsson U.J. Synthesis of a globotetraose trimer // Carbohydr. Res. – 2002. – V. 337. – P. 947-949.
2. Gege C., Schmidt R.R. Synthesis of dimeric lactose and dimeric (sialyl) Lewis<sup>X</sup> glycolipids // Carbohydr. Res. – 2002. – V. 337. – P. 1089-1094.
3. Blanc-Muesser M., Vigne L., Driguez H., Lehmann J., Steck J., Urbahns K. Spacer-modified disaccharide und pseudo-trisaccharide methyl glycosides that mimic maltotriose, as competitive inhibitors for pancreatic alpha-amylase: a demonstration of the “clustering effect” // Carbohydr. Res. – 1992. – V. 224. – P. 59-71.
4. Lehmann J., Liser L. Photolabile, spacer-modified oligosaccharides for probing malto-oligosaccharide binding sites in proteins // Carbohydr. Res. – 1990. – V. 205. – P. 93-103.
5. Li Q., Su B., Li H., Meng X-B. et al. Synthesis and potential antimetastatic activity of monovalent and divalent  $\alpha$ -D-galactopyranosyl-(1→4)-2-acetamido-2-deoxy-D-glucopyranosides // Carbohydr. Res. – 2003. – V. 338. – P. 207-217.
6. Satg C., Granet R., Verneuil B. et al. Synthesis and properties of new bolaform and macrocyclic galactose-based surfactants obtained by olefin metathesis // Carbohydr. Res. – 2004. – V. 339. – P. 1243-1254.
7. Murata J., Kitamoto T., Ohya Y., Ouchi T. Effect of dimerization of the D-glucose analogue of muramyl dipeptide on stimulation of macrophage-like cells // Carbohydr. Res. – 1997. – V. 297, № 2. – P. 127-133.
8. Lemieux R.U., Driguez H. The chemical synthesis of 2-acetamido-2-deoxy-4-*O*-( $\alpha$ -L-fucopyranosyl)-3-*O*-( $\beta$ -D-galactopyranosyl)-D-glucose. The Lewis<sup>a</sup> blood-group antigenic determinant // J. Am. Chem. Soc. – 1975. – V. 52, № 14. – P. 4063-4068.

*Поступила в редакцию 01.03.2006 г.*