

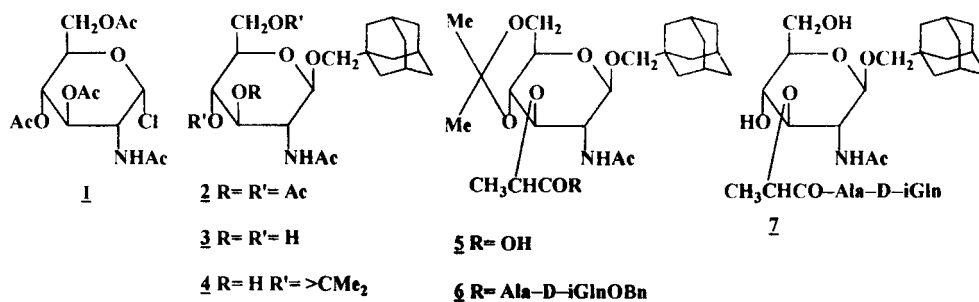
СИНТЕЗ β -(АДАМАНТИЛ-1-МЕТИЛ)ГЛИКОЗИДА

N-АЦЕТИЛМУРАМОИЛ-L-АЛАНИЛ-D-ИЗОГЛУТАМИНА

Цикалов В. В., Чирва В. Я., доктор химических наук, профессор,

Земляков А. Е., кандидат химических наук, доцент

Из модификаций N-ацетилмурамоил-L-аланил-D-изоглутамина (МДП, мурамоилдипептид) гликозиды МДП сочетают экономичность синтеза с высокой биологической активностью. На кафедре органической химии СГУ осуществлен синтез гликозидов мурамоилдипептида с агликонами различной природы, в том числе линейными [1,2] и α -разветвленными [3] алифатическими, алициклическими [4], ароматическими [4] и стероидными [5]. Ряд гликозидов МДП показал адъювантный и иммуностимулирующий эффект превышающий действие мурамоилдипептида [6,7]. В продолжении работ по изучению взаимосвязи между структурой гликозидов мурамоилдипептида и их биологической активностью, а также с целью поиска новых перспективных иммуномодуляторов нами синтезирован β -(адамантил-1-метил)гликозид N-ацетилмурамоил-L-аланил-D-изоглутамина (**7**). Трициклический агликон в этом соединении обладает максимальной гидрофобностью при минимальных размерах, что несомненно повлияет на способность гликопептида взаимодействовать с биомембранами. Такая особенность адамантильного фрагмента широко используется при создании различных лекарственных препаратов. В гликопептидах подобная конструкция была использована чехословацкими учеными, которые запатентовали адамантиламид N-ацетилмурамоил-L-аланил-D-изоглутамина [8].



Стартовое соединение – парацетилированный β -(адамантил-1-метил)гликозид N-ацетилглюкозамина **2**, было получено гликозилированием адамантил-1-метанола сполна ацетилированным α -глюкозаминилхлоридом **1** в присутствии иодида ртути(II). В ¹H-ЯМР-спектре гликозида **2** идентифицированы все сигналы протонов углеводного остатка и агликона (см. «Экспериментальную часть»). β -Конфигурация гликозидной связи следует из наличия в спектре дублета аномерного протона с δ 4,48 м.д. и КССВ 8,5 Гц.

Соединение **2** дезацетилировали по Земплону и в полученном триоле **3** действием 2,2-диметоксипропана защитили гидроксильные группы у С-4 и С-6. В изопропилиденовом производном

4 свободный гидроксил обработали гидридом натрия и α -L-бромпропионовой кислотой в диоксане, что привело к 4,6-*O*-изопропилиден-N-ацетил-D-мурамовой кислоте **5**. Конденсацию кислоты **5** с бензиловым эфиром L-аланил-D-изоглутамина проводили N-гидроксисукциновым методом и получили защищенный гликопептид **6**. Введение пептидного фрагмента подтверждается присутствием в ^1H -ЯМР-спектре вещества **6** наряду с сигналами протонов углеводной части молекулы сигналов протонов бензинового эфира (синглет метиленовой группы с δ 5,08 м.д. и мультиплет ароматических протонов с δ 7,36 м.д.), остатка изоглутамина (дублет-дублет-дублетов метинового протона с δ 4,00 м.д., два мультиплета неэквивалентных протонов β -метиленовой группы с δ 1,91 и 2,00 м.д., триплет γ -метиленовой группы с δ 2,35 м.д.) и остатка аланина (дублет метильной группы с δ 1,25 м.д. и дублет-квартетов метинового протона с δ 4,19 м.д.).

Изопропилиденовую защиту в соединении **6** удалили кислотным гидролизом, а бензиловый эфир с остатка изоглутамина – каталитическим гидрогенолизом, что дало целевой β -(адамантил-1-метил)гликозид МДП **7**.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Температуры плавления определяли на приборе ПТП, оптическое вращение при 20-22 $^{\circ}\text{C}$ – на поляриметре Polamat-A. Спектры ПМР получены на приборах Varian Gemini-200 (200 МГц) и Varian VXR-300 (300 МГц) внутренний стандарт – тетраметилсилан. Приведены химические сдвиги (м.д., δ -шкала) и КССВ (J , Гц). ТСХ проводили на пластинках Silufol UV-254 (Kavalier) и Kieselgel 60-F₂₅₄ (Merck). Вещества обнаруживали обугливанием при 300 $^{\circ}\text{C}$ (Silufol) и 5% раствором серной кислоты в бутаноле-1 при нагревании до 200-300 $^{\circ}\text{C}$ (Kieselgel). Использовали системы растворителей: хлороформ – этанол, 15:1 (**1**), 5:1 (**2**), бензол – этанол, 10:1 (**3**). Колоночную хроматографию проводили на силикагеле Aldrich 70-230 меш. Данные элементного анализа синтезированных соединений соответствуют расчетным значениям.

Адамантил-1-метанол был получен восстановлением метилового эфира адамантил-1-карбоновой кислоты (Aldrich) LiAlH_4 .

(Адамантил-1-метил)-2-ацетамидо-3,4,6-три-*O*-ацетил-2-дезоксид- β -D-глюкопиранозид (**2**). К раствору 500 мг (1,37 ммоль) 2-ацетамидо-3,4,6-три-*O*-ацетил-2-дезоксид- α -D-глюкопиранозилхлорида [9] в 10 мл сухого дихлорэтана добавили 1,16 экв. иодида ртути(II) и 230 мг (1,37 ммоль) адамантил-1-метанола. Реакционную смесь перемешивали в присутствии молекулярных сит 3А до исчезновения гликозил-донора (контроль ТСХ в системах **1**, **3**). Молекулярные сита и катализатор отфильтровали, фильтрат разбавили хлороформом и промыли водой. Органический слой отделили, осушили безводным Na_2SO_4 и упарили. Остаток очищали колоночной хроматографией (бензол \rightarrow бензол – этанол, 25:1) и получили 270 мг (41%) гликозида **2**; т. пл. 136-138 $^{\circ}\text{C}$, $[\alpha]_{546}^{20} -30^{\circ}$ (с 0,76; хлороформ). ^1H -ЯМР

(C²HCl₃, 200 МГц): 1,43м и 1,61м (CH₂ и CH), 1,89с, 1,96с, 1,97с, 2,03с (12H, NAc и 3 OAc), 2,90д и 3,45д (2H, C-1-OCH₂, J_{гем} 9,5), 3,60дд (1H, H-5), 3,86дд (1H, H-2, J_{2,3} 10,5), 4,06дд и 4,21дд (2H, H-6a, H-6b, J_{5,6a} 2,5 Гц, J_{5,6b} 4,5, J_{6a,6b} 12), 4,58д (1H, H-1, J_{1,2} 8,5), 5,06дд (1H, H-4, J_{4,5} 9,5), 5,18дд (1H, H-3, J_{3,4} 9,5), 5,45д (1H, NH, J_{2,NH} 8,5).

(Адамантил-1-метил)-2-ацетиамидо-2-дезоксид-β-D-глюкопиранозид (3). 1,0 г (2,02 ммоль) ацетата **2** растворили в 20 мл сухого метанола и добавили 0,5 мл 0,1 н. раствора метилата натрия в метаноле. Выпавший при стоянии осадок отфильтровали, промыли холодным метанолом. Фильтрат нейтрализовали катионитом КУ-2 (H⁺), смолу отфильтровали, растворитель упарили. Общий выход соединения **3** – 0,71 г (95%); т. пл. 149-150 °С, [α]₅₄₆ -31° (с 1,0; диметилформамид).

(Адамантил-1-метил)-2-ацетиамидо-2-дезоксид-4,6-O-изопропилиден-β-D-глюкопиранозид (4). Суспензию 0,61 г (1,66 ммоль) вещества **3** в 15 мл сухого диоксана нагрели при перемешивании до 50-55 °С и добавили 2 мл 2,2-диметоксипропана и 10 мг TsOH. Через 1 час (контроль ТСХ в системе **2**) реакционную смесь охладил, нейтрализовал пиридином и упарили. Остаток очистили колоночной хроматографией (бензол – этанол, 75:1 → бензол – этанол, 25:1) и получили 416 мг (62%) ацетата **4**; т. пл. 172-174 °С, [α]₅₄₆ -56° (с 1,0; хлороформ).

(Адамантил-1-метил)-2-ацетиамидо-2-дезоксид-4,6-O-изопропилиден-3-O-(D-1-карбоксиэтил)-β-D-глюкопиранозид (5). К суспензии 415 мг (1,02 ммоль) соединения **4** в 10 мл сухого диоксана при перемешивании порциями добавили 4 экв. гидрида натрия. Реакционную смесь нагрели до 95 °С, выдержали при этой температуре 1 ч и после охлаждения до 65 °С прилили 140 мкл (1,52 ммоль) L-2-бромпропионовой кислоты и выдержали при 65 °С еще 3 ч. После охлаждения избыток гидрида натрия разложили этанолом, смесь концентрировали и вылили в 50 мл холодной воды. Раствор подкислили 2 н. HCl до pH 3-4 и экстрагировали мурамовую кислоту хлороформом (3 x 20 мл). Экстракт высушили безводным Na₂SO₄ и упарили, остаток осадил добавлением эфира и гексана. Выход кислоты **5** составил 470 мг (96%); аморфный порошок, [α]₅₄₆ -31° (с 1,0; хлороформ).

Бензиловый эфир O-[(адамантил-1-метил)-2-ацетиамидо-2-дезоксид-4,6-O-изопропилиден-β-D-глюкопиранозид-3-ил]-D-лактоил-L-аланил-D-изоглутамина (6). К раствору 470 мг (0,98 ммоль) кислоты **5** в 10 мл сухого диоксана при перемешивании добавили 124 мг (1,08 ммоль) HOSu и 220 мг (1,08 ммоль) DCC. Через 3-5 ч отфильтровали осадок дициклогексилмочевины и промыли его растворителем. К фильтрату прибавили трифторацетат бензилового эфира L-аланил-D-изоглутамина (получен обработкой 400 мг (0,98 ммоль) соответствующего Вос-производного трифторуксусной кислотой с последующим упариванием досуха) и триэтиламин до pH 8. По окончании реакции (контроль ТСХ в системе **2**) реакционную смесь концентрировали и добавили 30 мл эфира. Продукт отфильтровали и колоночной хроматографией (элюент: хлороформ → хлороформ – этанол, 25:1) вы-

делили 510 мг (68%) гликопептида **6**; т. пл. 119-121 °С, $[\alpha]_{546}^{20}$ (с 1,0; хлороформ). ¹H-ЯМР (DMSO-*d*₆, 300 МГц): 1,20д и 1,25д (6H, 2 $\underline{\text{CH}_3\text{CH}}$, *J*_{гем} 7), 1,32с и 1,46с (6H, Me₂C), 1,43м и 1,61м (CH₂ и CH), 1,78с (3H, NAc), 1,91м и 2,00м (2H, β-CH₂, Glu), 2,35т (2H, γ-CH₂, Glu), 2,91д и 3,30д (2H, C-1-OCH₂, *J*_{гем} 10), 4,00ддд (1H, CH, Glu), 4,19дк (1H, CH, Ala), 4,24к (1H, $\underline{\text{CHMe}}$), 4,32д (1H, H-1, *J*_{1,2} 8), 5,08 с (2H, COOCH₂Ph), 7,13с и 7,32с (2H, CONH₂), 7,29д (1H, NH, GlcNAc), 7,36м (5H, Ph), 7,91д и 8,15д (2H, 2 NH).

O-[(Адамантил-1-метил)-2-ацетамидо-2-дезоксид-β-D-глюкопиранозид-3-ил]-D-лактоил-L-аланил-D-изоглутамин (**7**). Алкилиденное производное **6** (280 мг, 0,36 ммоль) растворили при нагревании на кипящей водяной бане в 3 мл 80% уксусной кислоте и выдержали при этой температуре 10 мин (контроль ТСХ в системе **2**). Раствор упарили досуха, остаток соупарили с толуолом и растерли в эфире.

Бензиловый эфир **O**-[(адамантил-1-метил)-2-ацетамидо-2-дезоксид-β-D-глюкопиранозид-3-ил]-D-лактоил-L-аланил-D-изоглутамина (250 мг, 0,34 ммоль) растворили в 5 мл этанола и подвергли каталитическому гидрогенолизу при комнатной температуре над 150 мг Pd/C. Через 2 ч катализатор отфильтровали, промыли 2 мл этанола. Фильтрат упарили и добавлением эфира высадили 190 мг (85%) гликопептида **7**; аморфный порошок.

Литература.

1. Земляков А.Е., Чирва В.Я. // Химия природ. соедин.- 1987.- №5.- С.714-718.
2. Курьянов В.О., Земляков А.Е., Чирва В.Я. // Укр. хим. журн.- 1994.- Т.60.- №12.- С.858-861.
3. Курьянов В.О., Земляков А.Е., Чирва В.Я. // Биоорган. химия.- 1994.- Т.20.- №4.- С.439-447.
4. Земляков А.Е., Курьянов В.О., Цикалов В.В., Аксенова Е.А., Чирва В.Я. // Химия природ. соедин.- 1997.- № 1.- С.79-86.
5. Курьянов В.О., Земляков А.Е., Чирва В.Я. // Биоорган. химия.- 1996.- Т.22.- №4.- С.287-290.
6. Krivorutchenko Yu.L., Andronovskaja I.B., Hinkula J., Krivoshein Yu.S., Ljungdahl-Stähle E., Pertel S.S., Grishkovets V.I., Zemlyakov A.E., Wahren B. // Vaccine.- 1997.-V.15.- №12/13.- P.1479-1486.
7. Kalyuzhin O.V., Zemlyakov A.E., Fuchs B.B. // Int. J. Immunopharmac.- 1996.- V.18.- №11.- P.651-659.
8. Flegel M., Krojidlo M., Kolinsky J., Masek K., Seifert J. Авт. Св. 253779 СССР // РЖ Химия.- 1989.- 7 О123П.
9. Хортон Д. // Методы исследования углеводов; Ред. А.Я. Хорлин.- М.: Мир, 1975.- С.221-224.