

УДК 547.455.623'2:612.014.46

СИНТЕЗ И ХИМИЧЕСКАЯ МОДИФИКАЦИЯ 2-АЦЕТАМИДО-2-ДЕЗОКСИ-β-D-ГЛЮКОПИРАНОЗИЛАМИНА

Чупахина Т.А.

*Таврический национальный университет имени В.И. Вернадского, Симферополь, Украина
E-mail: tachup@rambler.ru*

Осуществлен синтез 2-ацетамидо-2-дезоксид-β-D-глюкопиранозиламина. Показана возможность использования полученного гликозиламина, как гликозил-донора в реакциях нуклеофильного замещения. Изучены условия ацилирования 2-ацетамидо-2-дезоксид-β-D-глюкопиранозиламина. Строение синтезированных N'-замещенных гликозидов однозначно доказано методом ¹H ЯМР спектроскопии.

Ключевые слова. гидрогенолиз, гликозилазид, гликозиламин, ацилирование.

ВВЕДЕНИЕ

В синтетической химии углеводов разработка и усовершенствование подходов к построению N-гликозидной связи занимает одно из центральных мест. Модифицированные производные сахаров представляют большой научный и практический интерес, поскольку многие из них обладают ярко выраженной биологической активностью и находят применение в медицине, например, в качестве эффективных противовирусных и противораковых препаратов. Имобилизованные на синтетических полимерах или при помощи агарозного геля синтетические углеводные производные, содержащие N-гликозидные связи, могут применяться для разделения различных белков или природных гликопротеинов [1]. Не исчезает интерес и к синтезу моно- и дизамещенных производных тиомочевины, мочевины или тиосемикарбазида как аналогов нуклеозидов и гликозиламиногетероциклических соединений с потенциальной биологической активностью, например, противомаларийной [2–4]. Различные N-ацильные производные 2-ацетамидо-2-дезоксид-D-глюкопиранозиламина являются сильными метаболическими ингибиторами гликозидазы клеточной мембраны.

Одним из основных и наиболее простых подходов к получению модифицированных моносахаридов является синтез N-гликозиламинов. Они представляют интерес как интермедиаты, содержащие свободную аминогруппу для дальнейших превращений, что и привлекает большое внимание химиков-синтетиков и биохимиков. Гликозиламины легко доступны восстановлением гликозилазидов и являются ключевыми билдинг-блоками в построении молекул природных соединений [5], их синтетических аналогов, прежде всего, углеводов-

пептидных конъюгатов, служат удобной платформой в синтезе малодоступных иным путем L-аминокислот [6–8].

В настоящем сообщении обсуждаются особенности синтеза N¹-замещенных гликозидов 2-аминосахаров на примере 2-ацетамидо-2-дезоксид-D-глюкозы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

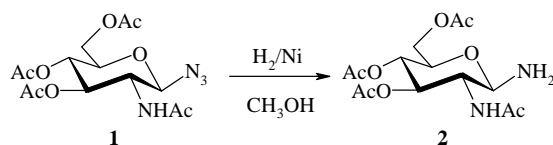
Температуру плавления определяли на приборе ПТП в открытых стеклянных капиллярах, оптическое вращение при 20–22 °С – на поляриметре Polamat-A ($\lambda=546$ нм).

Анализ состава реакционных смесей, чистоты синтезированных соединений, а также мониторинг реакций, проводили методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинках Sorbfil-АФВ-УФ («Сорбполимер», Россия). Зоны веществ обнаруживали 5% раствором серной кислоты в этаноле с последующим нагреванием до 200–300 °С. Для проявления хроматограмм использовали системы растворителей: бензол–изопропиловый спирт, 10:1 (А), хлороформ–изопропиловый спирт, 15:1 (Б).

¹H ЯМР спектры получены на спектрометрах Varian Mercury-400 (400 МГц), внутренний стандарт – Me₄Si. Приведены химические сдвиги (ХС) (м.д., δ -шкала) и константы спин-спинового взаимодействия (КССВ, J, Гц).

Схема 1

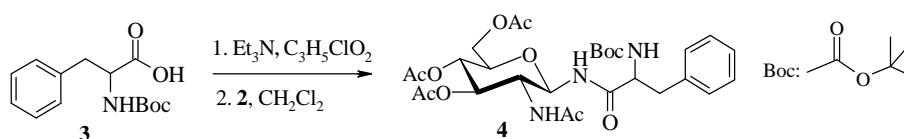
Синтез 2-ацетамидо-3,4,6-три-O-ацетил-2-дезоксид- β -D-глюкопиранозиламина (2)



1 г (2,69 ммоль) гликозида **1** [9] подвергли гидронолизу над 1,5 г (12,6 ммоль) никель Ренея [10] в 10 мл метанола. Реакционную смесь перемешивали в течение 4 ч при комнатной температуре (контроль ТСХ, система А). Отфильтровали катализатор, растворитель отгоняли при пониженном давлении. Выход сырого продукта **2** составил 970 мг.

Схема 2

Синтез N-(N-трет-бутилоксикарбонил-L-фенилаланил)-2-ацетамидо-3,4,6-три-O-ацетил-2-дезоксид- β -D-глюкопиранозиламина (4)



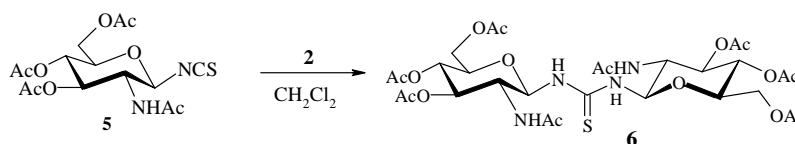
К раствору 230 мг (0,87 ммоль) трет-бутилоксикарбонилфенилаланина **3** в 4 мл безводного метиленхлорида прибавляли при 0–5 °С 120 мкл (0,87 ммоль) триэтиламина и 84 мкл (0,87 ммоль) этилхлорформиата. Через 15 мин в

реакционную смесь внесли 300 мг (0,87 ммоль) гликозиламина **2** и выдерживали при 0 °С в течение 1 ч, а затем при комнатной температуре (контроль ТСХ, система Б). Выпавшую соль отфильтровывали, растворитель отгоняли при пониженном давлении. Осадок растворяли в 15 мл хлороформа, промывали водой (3×10 мл). Органический слой сушили над безводным сульфатом натрия, осушитель удаляли, растворитель отгоняли при пониженном давлении. Полученный осадок перекристаллизовали из изопропилового спирта. Выход продукта **4** – 178 мг (45%); т. пл. 195 °С, $[\alpha]_{546} -0,18^{\circ}$ (*c* 1,0; DMSO).

¹H ЯМР (DMSO-d₆): 1,31с (9H, 3CH₃), 1,77с (3H, NHAc), 1,94с, 1,97с, 2,02с, (9H, 3OAc), 2,74д, 2,94д (2H, -CH₂Ph-), 4,04м (1H, -NHCO-), 4,20м (4H, H-2, H-5, H-6_a, H-6_b), 4,84дд (1H, H-4, *J*_{4,5} 9,2 Гц), 5,09дд (2H, H-3, *J*_{3,4} 10,0 Гц), 5,13дд (1H, H-1, *J*_{1,2} 9,6 Гц), 6,45д (1H, -NH₂-, *J*_{NH₂} 8,4 Гц), 7,21м (5H, CH_{аром.}-), 7,83д (1H, NH, *J*_{2,NH} 9,6 Гц), 8,52д (1H, -NHCO-, *J*_{NHCO} 8,8 Гц).

Схема 3

Синтез *N,N'*-бис-(2-ацетиламино-3,4,6-три-*O*-ацетил-2-дезоксид-β-D-гликопиранозил)тиомочевины (**6**)

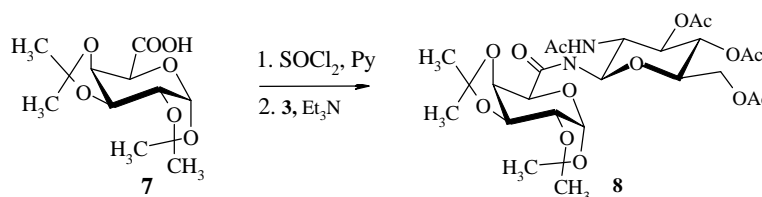


В 5 мл хлористого метилена растворяли 336 мг (0,87 ммоль) изотиоцианата **5** [9] и 300 мг (0,87 ммоль) гликозиламина **2**. Реакционную смесь перемешивали 3 ч при комнатной температуре (контроль ТСХ, система А). Растворитель отгоняли при пониженном давлении. Полученный осадок кристаллизовали из изопропилового спирта. Выход соединения **6** составил 410 мг (65%); т. пл. 248 °С, $[\alpha]_{546} -0,35^{\circ}$ (*c* 1,0; DMSO).

¹H ЯМР (DMSO-d₆): 1,78с (6H, 2NHAc), 1,91с, 1,97с, 1,99с (18H, 6OAc), 3,75дд, 4,22дд (4H, 2H-6_a, 2H-6_b, *J*_{gem} 12,6 Гц), 3,96м (4H, 2H-2, 2H-5), 4,83дд (2H, 2H-4, *J*_{4,5} 10 Гц), 5,06дд (2H, 2H-3, *J*_{3,4} 9,6 Гц), 5,00дд (2H, 2H-1, *J*_{1,2} 8,8 Гц), 8,07дд (2H, NH, *J*_{2,NH} 9,6 Гц), 8,35д (2H, NHCS).

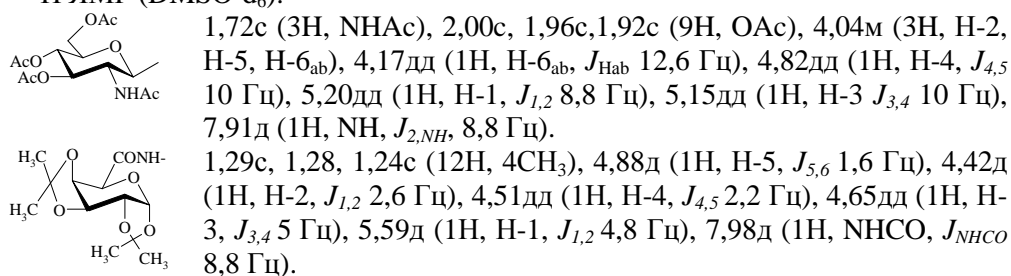
Схема 4

Синтез *N*-(1,2:3,4-ди-*O*-изопропилиден-α-D-галактопирануроил)-2-ацетиламино-3,4,6-три-*O*-ацетил-2-дезоксид-β-D-гликопиранозиламина (**7**)



К раствору 159 мг (0,58 ммоль) диацетонгалактуроновой кислоты **7** [11] в 5 мл безводного толуола добавляли 51 мкл (0,64 ммоль) пиридина и 47 мкл (0,64 ммоль) тионилхлорида. Через час в реакционную смесь внесли 200 мг (0,58 ммоль) гликозиламина **2**, 90 мкл (0,64 ммоль) триэтиламина и перемешивали реакционную массу при комнатной температуре (контроль ТСХ, система Б). Осадок отфильтровали, растворитель отгоняли досуха при пониженном давлении. Остаток растворяли в 15 мл хлороформа, отмывали водой (3×10 мл). Органический слой сушили над безводным сульфатом натрия, удаляли осушитель, растворитель отогнали при пониженном давлении. Полученный осадок кристаллизовали из изопропилового спирта. Выход соединения **8** составил 180 мг (52%); т. пл. 245 °С, $[\alpha]_{546}^{20} -0,29^\circ$ (с 1,0; DMSO).

¹H ЯМР (DMSO-d₆):



РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Одним из классических подходов к получению гликозиламинов является восстановление соответствующих гликозилазидов. Ранее нами показано, что нуклеофильное замещение атома хлора в гликозил-галогениде на азидогруппу с участием азида натрия легко протекает в условиях межфазного катализа с использованием краун-эфира [9]. Этот подход был использован в синтезе гликозилазида **1**, который далее восстанавливали над никелем Ренея в среде метанола. Полученный гликозиламин **2** без предварительной очистки использовали для дальнейшей модификации по аминогруппе.

Ацилирование соединения **2** Вос-фенилаланином методом активированных эфиров или карбодиимидным методом не увенчалось успехом, что, по-видимому, связано с низкой нуклеофильностью атома азота при гликозидном центре. Целевой продукт **4** с выходом 45% удалось получить с помощью метода смешанных ангидридов [12]. Получение *in situ* хлорангидрида диацетонгалактуроновой кислоты и последующее взаимодействие его с гликозиламином **2** привело к образованию *N*-ацилглюкопиранозиламина **8** с выходом 52%.

Наряду с использованием спейсерированных гликозидов, которые занимают особое место в химии углеводов, немалую роль играет и синтез поливалентных лигандов, несущих заданное количество моносахаридных остатков. Для получения подобных соединений, содержащих несколько остатков 2-ацетамидо-2-дезоксид-*D*-глюкозы, связанных с кором неуглеводной природы *N*-гликозидной связью, выбран один из наиболее универсальных синтетических интермедиатов используемый в органической химии – гликозилотиоцианат. Реакцией эквивалентных количеств

соединений **5** и **2** в дихлорметане синтезирована дизамещенная тиомочевина **6** с выходом 65%. Возможна и дальнейшая модификация данного производного по атому серы, что позволяет рассматривать его и как спейсерный гликозид.

Строение всех полученных соединений доказано с помощью ^1H ЯМР спектроскопии. Из ПМР-спектров соединений **4**, **6**, **8** однозначно следует β -конфигурация гликозидных центров – наличие однопротонных триплетов с ХС от 5,13 до 5,49 м.д. и величинами КССВ 8,8–9,6 Гц.

Введение аминокислотного остатка по аминогруппе в гликозилаmine **4** подтверждается присутствием в его спектре трех однопротонных дублетов амидных групп с ХС 6,45, 7,83 и 8,52 м.д. Сигнал метинового протона идентифицирован в характерном для аминокислот узком интервале 3,79–4,24 м.д. В более слабом поле – δ 2,74 м.д. и 2,94 м.д., расположен сигналы протонов группы CH_2 . В спектре также присутствуют сигналы протонов углеводного остатка и протонов метильных групп Вос-защиты в аминокислотном остатке.

Спектр *N*-уроноилгликопиранозиламина **8** полностью соответствует заданной структуре. В частности, об образовании амидной связи свидетельствует наличие в ПМР-спектре сигналов протонов амидных групп в области 7,89–7,97 м.д., а также идентифицированы сигналы протонов остатка *N*-ацетилглюкозамина и *D*-галактурановой кислоты, протонов изопропилиденовых защитных групп.

Спектр *бис*-производного **6** характеризуется удвоением интегральной интенсивности сигналов протонов остатков *D*-глюкозамина. В спектре идентифицирован сигнал протона тиоамидной группы в виде дублета с ХС 8,4 м.д. и также сигналы скелетных протонов углеводного остатка.

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что *N*-ацилирование 2-ацетамидо-2-дезоксид- β -*D*-гликопиранозиламина аминокислотами осуществляется методом смешанных ангидридов.
2. Модифицированная методика может быть использована для получения углеводных производных аминокислот с психотропной активностью.
3. Показано, что для получения различных *N*-замещенных производных 2-ацетамидо-2-дезоксид- β -*D*-гликопиранозиламина необходимо использование высокореакционных органических соединений.

Список литературы

1. Likhosherstov L.M. New synthesis of glycosylamines of *D*-mannose, 2- and 6-deoxysugars, and glucuronic acid with the use of ammonium carbamate / L.M. Likhosherstov, O.S. Novikova V.N. Shibaev // Doklady Chemistry. – 2003. – Vol. 389, No 4–6. – P. 73–76.
2. Gama Y. Novel and efficient synthesis of 4-dimethylamino-2-glycosilaminoquinazolines by cyclodesulfurization of glycosyl thioures with dimethylcyanamide / Y. Gama, I. Shibuya, M. Shimizu // Chem. Pharm. Bull. – 2002. – No 50. – P. 1517–1519.
3. Wang Q. Synthesis and application of carbohydrate – containing polymers / Q. Wang, J.S. Dordick, R.J. Linharat // Chem. Mater. – 2002, No 14. – P. 3232–3244.
4. Tao J. Synthesis of 5-(6-pyridazinone-3-yl)-2-glycosylamino-1,3,4-oxadiazoles / J. Tao, D.-Z. Wang, L.-H. Cao // J. Chin. Chem. Soc. – 2007. – Vol. 54, No 5. – P. 1287–1292.

5. Suzuki T. Total synthesis of spicamycin / T. Suzuki, S.T. Suzuki, I. Yamada [et al.] // J. Org. Chem. – 2002. – Vol. 67, No 9. – P. 2874–2880.
6. Hager Ch. Epimerisation of carbohydrates and cyclitols. 17.1 Synthesis of glycosyl azides and N-acetyl glycosyl amines of rare monosaccharides / Ch. Hager // Synthesis. – 2000. – No 2. – P. 226–232
7. Suzuki T. Total synthesis of spicamycin amino nucleoside / T. Suzuki, S.T. Suzuki, I. Yamada [et al.] // Org. Lett. – 2000. – Vol. 2, No 8. – P. 1137–1140.
8. Macmillan D. Solid – phase synthesis of thioether – linked glycopeptide mimics for application to glycoprotein semisynthesis / D. Macmillan, A.M. Daines, M. Bayrhuber [et al.] // Org. Lett. – 2002. – Vol. 4, No 9. – P. 1467–1470.
9. Чупахина Т.А. Катализируемое краун-эфирами нуклеофильное замещение в перацетате α-глюкозаминилхлорида / Т.А. Чупахина, В.О. Курьянов // Ученые записки Симферопольского государственного университета. – 1998. – № 5 (44). – С. 192–198.
10. Беккер Х. Органикум / Х. Беккер, Р. Беккерт, В. Бергер [и др.] – М.: Мир, 2008. – Т. 2. – 336 с.
11. Kovach P. Synthesis carbohydrate. Nucleoside. Nucleotide / P. Kovach // J. Carbohydr. Nucleosid. Nucleotid. – 1974. – Vol. 1, No 2. – P. 183–186.
12. Гершкович А.А. Химический синтез пептидов / А.А. Гершкович, В.К. Кибирев – К.: Наук. думка, 1992. – 360 с.

Чупахина Т.О. Синтез та хімічна модифікація 2-ацетамідо-2-дезоксид-β-D-глюкопіранозиламіну / Т.О. Чупахина // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2013. – Т. 26 (65), № 1. – С. 350-355.

Запропоновано простий спосіб отримання 2-ацетамідо-2-дезоксид-β-D-глюкопіранозиламіну відновленням відповідного глікозилазиду. Показано можливість використання отриманого глікозиламіну, як глікозил-донора в реакціях нуклеофільного заміщення. На прикладі N-захисненої амінокислоти вивчено умови ацилювання 2-ацетамідо-2-дезоксид-β-D-глюкопіранозиламіну. Встановлено, що оптимальним для отримання подібних глікопептидів є метод змішаних ангідридів. Ацилювання діацетонгалактурановою кислотою можливо через утворення *in situ* відповідного хлорангідриду. Здійснено модифікацію за аміногрупою глікозиламіну універсальним синтетичним інтермедіатом – глікозилізотіоціанатом. Такий підхід дозволив отримати спейсерований глікозид. Будову синтезованих N'-замішених глікозидів однозначно доведено методом ¹H ЯМР спектроскопії.

Ключові слова. глікозилазид, гідрогеноліз, глікозиламін, ацилювання.

Chupakhina T.A. Synthesis and chemical modification of 2-acetamido-2-deoxy-β-D-glucopyranosylamine / T.A. Chupakhina // Scientific Notes of Taurida V. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2013. – Vol. 26 (65), No. 1. – P. 350-355.

A simple method for the preparation of 2-acetamido-2-deoxy-β-D-glucopyranosylamine by reducing of appropriate glycosylazid was proposed. The possibility of use of glycosylamine as a potential glycosyl-donor in the nucleophilic substitution was shown. On the example of N-protected amino acid it was studied acylation conditions of 2-acetamido-2-deoxy-β-D-glucopyranosylamine. It was shown that the optimal for obtaining of such glycopeptides is the method of mixed anhydrides. Acylation by diacetongalacturonic acid as a possible through *in situ* formation of the corresponding acyl chloride. A modification of amino group of glycosyl amine by versatile synthetic intermediate – glycosyl isothiocyanate was shown. This approach allowed us to synthesize spacer armed glycoside. The structure of the synthesized N'-substituted glycosides clearly proven by ¹H NMR spectroscopy.

Keywords. glycosylazid, hydrogenolysis, glicosylamin, acylation.

Поступила в редакцию 22.02.2013 г.