

УДК 542.91+547.458

БИОХИМИЯ

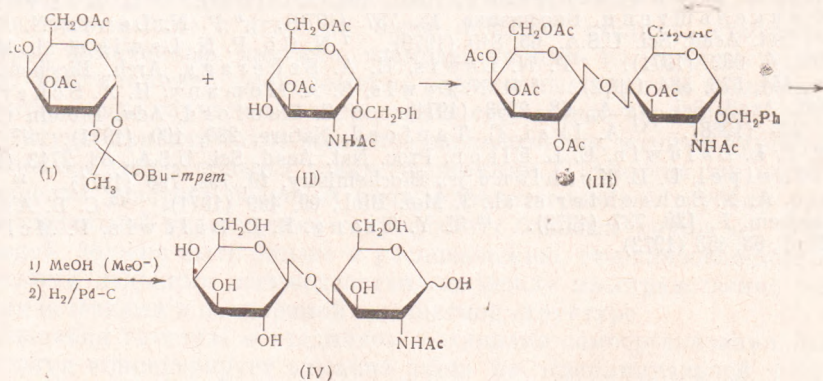
С. Э. ЗУРАБЯН, Е. Н. ЛОПАНЦЕВА, А. Я. ХОРЛИН

СИНТЕЗ N-АЦЕТИЛЛАКТОЗАМИНА

(Представлено академиком Ю. А. Овчинниковым 2 I 1973)

Построение (1 → 4)-гликозидной связи остается трудной задачей синтетической химии олигосахаридов. Некоторыми авторами ⁽¹⁾ высказывалось даже мнение, что гидроксильная группа при С-4 производных 2-амино-2-дезоксид-*D*-глюкопиранозидов не реагирует с гликозилгалогенидами. Вследствие этого был предложен ряд обходных путей синтеза (1 → 4)-связанных олигосахаридов ⁽²⁻⁴⁾. Однако не оставляются также попытки ⁽⁵⁾ прямого гликозилирования гидроксильной группы при С-4 производных пираноз в конформации С1.

В настоящем сообщении показано, что ортоэфирным методом ^(6,7) с успехом может быть гликозилирована экваториальная гидроксильная группа при С-4 производных 2-амино-2-дезоксид-*D*-глюкопиранозы. Этим методом синтезирован биологически важный дисахарид N-ацетиллактозамин (IV), являющийся структурным компонентом гликопротеинов. При действии небольшого избытка 1,2-трет-бутилортоацетил-3,4,6-три-О-ацетил- α -*D*-галактопиранозы (I) на бензил-2-ацетида-3,6-ди-О-ацетил-2-дезоксид- α -*D*-глюкопиранозид (II) в кипящем толуоле в присутствии перхлората лутидиния ⁽⁷⁾ с выходом 19% получен ацетилированный бензил- α -лактозаминид (III).



После дезацетилирования по Земплуну и последующего каталитического гидрирования в присутствии палладия на угле защищенный дисахарид (III) превращен в кристаллический N-ацетиллактозамин. Полученный дисахарид (IV) не отличается от заведомого образца* по константам и хроматографическому поведению на бумаге и имеет существенно большую подвижность (см. экспериментальную часть), чем соответствующий β -(1 → 6)-изомер. Синтетический N-ацетиллактозамин полностью гидролизуются β -гликозидазой из сладкого миндаля, образуя N-ацетилглюкоза-

* Авторы благодарят д-ра Р. В. Жанлоза (Бостон, США) за любезно предоставленный образец N-ацетиллактозамина.

мин и галактозу, что доказывает β -конфигурацию гликозидной связи между моносахаридными остатками и пиранозную форму терминального моносахаридного звена. Окончательным доказательством структуры синтезированного дисахарида является полная идентичность его и.к. спектра спектру заведомого N-ацетиллактозамина в диапазоне частот 600—4000 см^{-1} .

Исходный ортоэфир (I) получен общим методом синтеза ортоэфиров сахаров со сложными спиртовыми компонентами через гликозилнитраты, заключающемся во взаимодействии 1,2-цис-гликозилгалогенидов с соответствующими спиртами в присутствии нитрата серебра и коллидина (чему будет посвящено специальное сообщение).

Частичный ацетат (II) синтезирован с выходом 44% избирательным ацетилированием доступного бензил-2-ацетида-2-дезоксид- α -D-глюкопиранозидом (⁸, ⁹) рассчитанным количеством хлористого ацетила в пиридине при -30° . Препаративная хроматография на силикагеле дает хорошее разделение продуктов реакции.

Предлагаемый путь синтеза N-ацетиллактозамина является в настоящее время наиболее удобным препаративным способом получения этого дисахарида. Синтез N-ацетиллактозамина трансформацией молекулы лактозы (¹⁰) дает чрезвычайно низкий выход продукта (менее 1%). Прямое гликозилирование 2-ацетида-1,3,6-три-O-ацетил-2-дезоксид- α -D-глюкопиранозы по методу Кенигса—Кнорра (¹¹) дает также невысокий выход (менее 4%) ацетилированного лактозамина.

Экспериментальная часть

Температуры плавления (исправленные) определены на столике Boëtius. Оптические вращения определены на поляриметре «Perkin—Elmer» 141 в хлороформе для защищенных производных и в воде — для незащищенных. Тонкослойную хроматографию (ТСХ) осуществляли на неактивированных пластинках силикагеля LS 5/40 («Lachema», ЧССР), бумажную хроматографию (б.х.) — на бумаге FN3 (ГДР) в системе бутанол—этанол—вода (3:1:1). Значения R_f приведены с точностью $\pm 0,03$ для ТСХ и $\pm 0,01$ для б.х. Для препаративной хроматографии использовали силикагель L 40/100 («Lachema», ЧССР) или нейтральную окись алюминия IV степени активности («Reanal», Венгрия). Упаривание растворов проводили в вакууме при температуре не выше 35° .

1.2-Трет.-бутилортоацетил-3,4,6-три-O-ацетил- α -D-галактопираноза (I)*. Смесь 4,11 г тетра-O-ацетил- α -D-галактопиранозилбромид, 1,75 г измельченного сухого AgNO_3 и 0,1 мл коллидина перемешивали в 50 мл сухого бензола до полного исчезновения исходного бромид (ТСХ в системе эфир—гексан, 1:1). Выпавший AgBr отфильтровывали, промывали бензолом и маточный раствор упаривали досуха. Остаток (неочищенный тетра-O-ацетил- β -D-галактопиранозилнитрат) растворяли в 3 мл коллидина и перемешивали 2 дня с 20 мл безводного трет.-бутанола. Нитрат коллидина отфильтровывали, промывали бензолом, остаток после упаривания фильтратов хроматографировали на окиси алюминия. Градиентной элюцией от гексана к смеси гексан—ацетон (20:1) выделено 3,0 г (выход 74%) ортоэфира (I), т. пл. $89-90^\circ$ (из абс. эфира), $[\alpha]_D + 80^\circ$ (C 1,0), спектр п.м.р. (100 Мгц, в CDCl_3 , м.д. относительно ТМС): δ 1,35 (синглет, 9H, трет.-бутил); 1,75 (синглет, 3H, эндо- CCl_3); 2,05; 2,07; 2,11 (синглеты по 3H, OAc); 5,76 (дублет, $J_{1,2}$ 4,8 гц, H-1).

Найчено %:	C 53,21; H 6,98
C ₁₈ H ₂₈ O ₁₀ . Вычислено %:	C 53,46; H 6,98

* Этот ортоэфир использовался недавно в синтезе β -D-галактопиранозидов (¹²), однако способ его выделения и константы не были приведены.

Бензил-2-ацетамидо-3,6-ди-О-ацетил-2-дезоксид- α -D-глюкопиранозид (II). К раствору 6,22 г бензил-2-ацетамидо-2-дезоксид- α -D-глюкопиранозид (9) в 100 мл сухого пиридина при температуре от -35 до -30° и перемешивании за 30 мин. прибавляли раствор 3,12 мл хлористого ацетила в 20 мл сухого толуола. Перемешивание продолжали 2 часа при -30° и 20 час. при комнатной температуре. Осадок отфильтровывали, промывали толуолом и фильтраты упаривали досуха. Хроматографией остатка на силикагеле (колонка $2,5 \times 30$ см) с градиентной элюцией от эфира к смеси эфир — метанол (25 : 1) выделено 2,20 г (выход 25%) бензил-2-ацетамидо-3,4,6-три-О-ацетил-2-дезоксид- α -D-глюкопиранозид (V), т. пл. $109-110^\circ$ (из водного спирта), $[\alpha]_D + 111^\circ$ (C 0,6); и 3,45 г (выход 44%) соединения (II), т. пл. $103-105^\circ$ (из толуола), $[\alpha]_D + 83^\circ$ (C 0,6); ТСХ: $R_{\text{соед. V}}$ (0,70 (эфир — метанол, 30 : 1). По данным (8) для (V): т. пл. 111° , $[\alpha]_D + 103^\circ$; по данным (13) для (II): т. пл. $90-100^\circ$, $[\alpha]_D + 81^\circ$. Продукты ацетилирования, имеющие $R_{\text{соед. V}}$ 0,32 и 0,11 (в той же системе), не исследовались.

Бензил-2-ацетамидо-3,6-ди-О-ацетил-4-О-(2,3,4,6-тетра-О-ацетил- β -D-галактопиранозил)-2-дезоксид- α -D-глюкопиранозид (III). Раствор 4,53 г ортоэфира (I) и 3,16 г 3,6-ди-О-ацетата (II) в 80 мл сухого толуола высушивали, отгоняя 10 мл толуола. К смеси добавляли 0,2 ммоль перхлората лутидиния (7), растворенного в толуоле, и кипятили 1 час с медленной отгонкой растворителя и одновременным прибавлением свежего толуола. Раствор упаривали, остаток хроматографировали на силикагеле ($2,5 \times 30$ см), отбрасывая эфирный элюат и собирая фракцию, вымываемую смесью эфир — метанол (10 : 1). Остаток после упаривания последней (4,4 г) сушили и ацетилировали уксусным ангидридом в пиридине в течение 2 дней. После стандартной обработки ацетилированную смесь хроматографировали на силикагеле (4×50 см) с градиентной элюцией от хлороформа к смеси хлороформ — метилэтилкетон (10 : 1). Получено 1,10 г хроматографически чистого соединения (III), т. пл. $107-108,5^\circ$ (из эфира или из метанола), $[\alpha]_D + 68^\circ$ (C 0,65), ТСХ: $R_{\text{соед. III}}$ 1,20 (хлороформ — метилэтилкетон, 2 : 1). Выход 19%, считая на (II).

Найдено %: C 54,76; H 6,29
 $\text{C}_{33}\text{H}_{47}\text{NO}_{17}$. Вычислено %: C 54,63; H 5,97

N-Ацетиллактозамин (IV). Суспензию 0,75 г ацетата (III) в 10 мл абс. метанола обрабатывали 1 мл 1 M MeONa. Через 2 часа раствор нейтрализовали влажной смолкой KU-2 (H^+), фильтровали через уголь, разбавляли до 50 мл 90% метанолом и полученный бензил-N-ацетил- α -лактозаминид (ТСХ: $R_{\text{соед. III}}$ 0,20 в системе хлороформ — метанол, 4 : 1) без выделения гидрировали в присутствии 0,5 мл уксусной кислоты над 10% Pd на угле в течение 3 дней. Катализатор отфильтровывали, раствор упаривали досуха (к концу несколько раз с водой). Получено 0,38 г кристаллического N-ацетиллактозамина, т. пл. $170-171^\circ$ (из метанола), $[\alpha]_D + 49^\circ$ (2 мин.) $\rightarrow +29^\circ$ (равновесие; C 0,55), б.х. R_{Gal} 0,54. По данным (10): т. пл. $169-171^\circ$, $[\alpha]_D + 51^\circ \rightarrow +28^\circ$.

N-Ацетил-алло-лактозамин (2-ацетамидо-6-О- β -D-галактопиранозил-2-дезоксид- α -D-глюкопиранозид) имеет значение R_{Gal} 0,38. Синтетический дисахарид (IV) не отличается от заведомого образца также в системах бутанол — этанол — вода (3 : 1 : 2) и бутанол — уксусная кислота — вода (4 : 1 : 5), тогда как N-ацетил-алло-лактозамин и в этих системах имеет меньшую подвижность. И.к. спектр (IV), снятый на спектрофотометре «Perkin — Elmer» 237 в таблетке KBr, полностью идентичен спектру заведомого N-ацетиллактозамина в интервале частот $600-40\,000\text{ см}^{-1}$.

В результате гидролиза (IV) β -глюкозидазой из сладкого миндаля (фирма «Calbiochem», США) в ацетатном буфере (pH 5,0) при 37° иден-

тифицировали (б.х.) N-ацетилглюкозамин и галактозу, наряду с продуктом, имеющим меньшую подвижность, чем исходный (IV), и являющимся, по-видимому, продуктом трансгликозилирования.

Институт химии природных соединений
им. М. М. Шемякина
Академии наук СССР
Москва

Поступило
25 XII 1972

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ M. A. E. Shaban, R. W. Jeanloz, *Carbohydrate Res.*, **20**, 399 (1971).
² K. Heyns, R. Harrison et al., *Chem. Commun.*, **1966**, 671; K. Heyns, K. Propp et al., *Chem. Ber.*, **100**, 2655 (1967). ³ D. Shapiro, A. J. Acher, *J. Org. Chem.*, **35**, 229 (1970). ⁴ D. Shapiro, Y. Rabinsohn et al., *J. Org. Chem.*, **35**, 1464 (1970). ⁵ D. M. Hall, T. E. Lawler, *Carbohydrate Res.*, **16**, 1 (1971). ⁶ N. K. Kochetkov, A. J. Khorlin, A. F. Bochkov, *Tetrahedron*, **23**, 693 (1967). ⁷ А. Ф. Бочков, В. И. Сняtkова, Н. К. Кочетков, *Изв. АН СССР, сер. хим.*, **1967**, 2684; N. K. Kochetkov, A. F. Bochkov et al., *Carbohydrate Res.*, **16**, 17 (1971). ⁸ P. H. Gross, R. W. Jeanloz, *J. Org. Chem.*, **32**, 2759 (1967). ⁹ М. Л. Шульман, Г. В. Абрамова и др., *Изв. АН СССР, сер. хим.*, **1971**, 630. ¹⁰ R. Kuhn, W. Kirschenlohr, *Chem. Ber.*, **87**, 1547 (1954). ¹¹ Т. Окуяма, *Tohoku J. Exp. Med.*, **68**, 313 (1958). ¹² А. И. Башкатова, Г. В. Смирнова и др., *ДАН*, **201**, 1231 (1971). ¹³ M. Dejter-Juszynski, H. M. Flowers, *Carbohydrate Res.*, **18**, 219 (1971).