



УДК 547.455.566 233.1.057

© 1991 г.

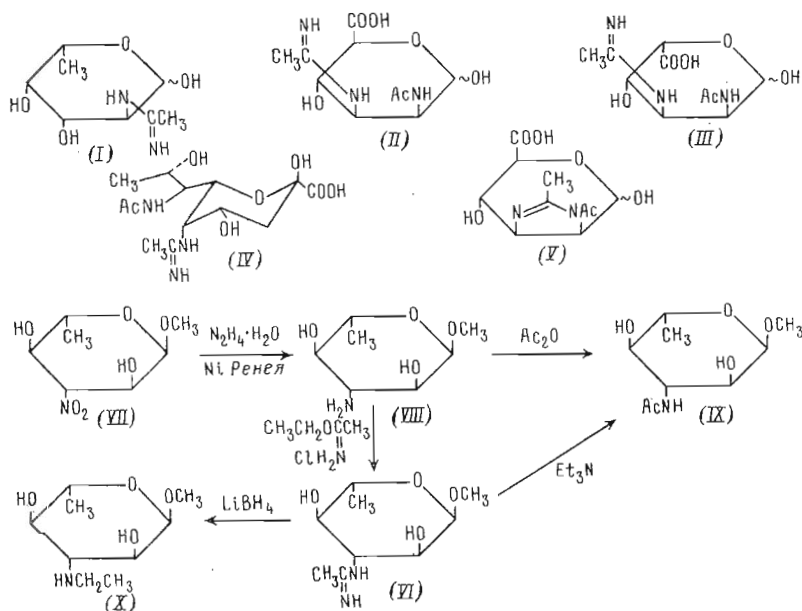
Н. А. Парамонов, Ю. А. Клирель, Н. К. Кочетков

СИНТЕЗ И СВОЙСТВА МЕТИЛ-3-АЦЕТАМИДИНО-3,6-ДИДЕЗОКСИ- α -L-ГЛЮКОПИРАНОЗИДА

Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского АН СССР, Москва

Описано получение метил-3-ацетамидино-3,6-дидезокси- α -L-глюкопиранозиды, первого синтетического N-ацетимидоильного производного аминсахара, и изучены его химические и спектральные (ЯМР) свойства. На основании полученных данных подтверждено строение содержащих N-ацетимидоильную группу природных аналогов этого моносахарида, являющихся компонентами ряда антигенных полисахаридов бактерий.

N-Ацетимидоильные производные аминсахаров были впервые идентифицированы в составе полисахаридных цепей (O-антигенов) липополисахаридов *Pseudomonas aeruginosa* [1–5] и позднее обнаружены также в O-антигенах *Vibrio cholerae* [6] и *Salmonella arizonae* [7]. К ним относятся 2-ацетамидино-2,6-дидезокси-L-галактоза (I) [1, 4, 7], 3-ацетамидино-2-ацетамидо-2,3-дидезокси-D-маннуриновая (II) и -L-гулуриновая кислота (III) [2, 3, 5], 7-ацетамидо-5-ацетамидино-3,5,7,9-тетрадезоксиглицеро-L-манно-нонулозоновая кислота (IV) [6]. (Ацетамидиновая группа в этих соединениях, как и в других N-замещенных амидах [8], имеет таутомерный характер; на формулах произвольно представлен один из таутомеров.) Моносахариду (II) было первоначально ошибочно приписано строение имидазолинового производного (V) [9, 10].



Моносахариды (I)–(IV) не были выделены в свободном виде, и их структуры были установлены при исследовании содержащих их полисахаридов и олигосахаридных фрагментов на основании химических превращений ацетимидоильной группы (щелочного гидролиза в ацетильную

Данные ^1H -ЯМР-спектров *

Соединение	H1	H2	H3	H4	H5	H6	OCH ₃	N-Заместитель	
								H1'	H2'
(VI)	4,86(д) $J_{1,2}$ 3,5	3,70(дд) $J_{2,3}$ 11	3,77(т) $J_{3,4}$ 11	3,26(т) $J_{4,5}$ 10	3,76(дк) $J_{5,6}$ 6,6	1,25(д)	3,41(с)		2,27(с)
(VIII)	4,82(д) $J_{1,2}$ 3,5	3,84(дд) $J_{2,3}$ 10,5	3,33(т) $J_{3,4}$ 10	3,39(т) $J_{4,5}$ 9	3,79(дк) $J_{5,6}$ 6,5	1,31(д)	3,47(с)		
(IX)	4,78(д) $J_{1,2}$ 3,5	3,61(дд) $J_{2,3}$ 11	4,00(т) $J_{3,4}$ 10	3,16(т) $J_{4,5}$ 10	3,77(дк) $J_{5,6}$ 6,5	1,27(д)	3,44(с)		2,03(с)
(X)	4,82(д) $J_{1,2}$ 3,5	3,97(дд) $J_{2,3}$ 11	3,52(т) $J_{3,4}$ 10	3,38(т) $J_{4,5}$ 10	3,79(дк) $J_{5,6}$ 6,5	1,31(д)	3,46(с)	3,32(к) $J_{1', 2'}$	1,35(т) 7,5

* Приведены δ (м.д.) и КССВ (Гц).

Таблица 2

Данные ^{13}C -ЯМР-спектров (δ , м.д.)

Соединение	C1	C2	C3	C4	C5	C6	OCH ₃	N-Заместитель	
								C1'	C2'
(VI)	99,9	71,3	59,5	74,5	69,2	18,0	56,6	168,6	20,5
(VIII)	99,9	69,8	57,1	73,0	69,3	18,0	57,0		
(IX) *	99,1	71,1	55,4	74,5	69,7	18,0	56,6	176,2	23,3
(X)	100,0	68,8	62,1	71,7	69,5	18,0	57,0	43,2	12,6

* Данные работы [12].

группу и восстановительного дезаминирования в этильную группу), а также по данным ^1H - и ^{13}C -ЯМР-спектров. Поскольку ранее химические и спектральные свойства N-ацетимидоильных соединений в ряду углеводов описаны не были, нами синтезировано модельное соединение — метил-3-ацетамидино-3,6-дидезокси- α -L-глюкопиранозид (VI), изучены его химические свойства, описаны его ^1H - и ^{13}C -ЯМР-спектры и проведено сравнение данных для природных моносахаридов и синтетического аналога (VI), подтвердившее установленное ранее строение N-ацетимидоильных производных (I—IV).

Исходным соединением для синтеза моносахарида (VI) служил метил-3,6-дидезокси-3-нитро- α -L-глюкопиранозид (VII), полученный из метил- α -L-рамнопиранозид по методу [11]. Восстановлением скелетным никелем Ренея с гидразингидратом соединение (VII) было превращено в метил-3-амино-3,6-дидезокси- α -L-глюкопиранозид (VIII), строение которого было подтверждено данными ^1H - и ^{13}C -ЯМР-спектров (табл. 1 и 2), положительной реакцией с нингидрином и N-ацетилированием ацетангидридом в метаноле в присутствии пиридина по методу [13] с образованием метил-3-ацетамидо-3,6-дидезокси- α -L-глюкопиранозид (IX). N-Ацетимидоилирование аминоксара (VIII) было проведено действием гидрохлорида этилацетимидата [14], и полученный моносахарид (VI) был выделен понообменной хроматографией высокого давления.

Строение моносахарида (VI) подтверждалось данными ^1H - и ^{13}C -ЯМР-спектров (табл. 1 и 2). В его ^1H -ЯМР-спектре присутствовал сигнал N-ацетимидоильной группы при 2,27 м. д. (CH_3 , синглет); в ^{13}C -ЯМР-спектре эта группа давала сигналы при 20,5 м. д. (CH_3) и 168,6 м. д. ($\text{C}=\text{NH}$). В ^1H -ЯМР-спектре природных N-ацетимидоильных производных присутствовал сигнал $\text{CH}_3\text{C}(\text{=NH})$ в области 2,17—2,42 м. д., а в ^{13}C -ЯМР-спектрах — сигналы $\text{CH}_3\text{C}(\text{=NH})$ при 19,6—20,9 м. д. и $\text{CH}_3\text{C}(\text{=NH})$ при 167—168,4 м. д. (табл. 3). Таким образом, как в модельном, так и в природных соединениях химические сдвиги каждого из сигналов N-ацетими-

Химические сдвиги (δ , м.д.) сигналов N-ацетимидоильной группы и изменения химических сдвигов ($\Delta\delta$, м.д.) атома C, несущего аминогруппу, и присоединенного к нему протона при изменении заместителя аминогруппы в ^1H - и ^{13}C -ЯМР-спектрах *

Сигналы	(I)	(II)	(III)	(IV)	(VI)
δ_{H}	2,22—2,29	2,17—2,28	2,42	2,39	2,27
$\delta_{\text{C}} \text{CH}_3\text{C}(=\text{NH})$	167,5—167,8	167,0—167,4	167,8—168,2 170,0—170,2 20,6—20,9	168,4	168,6
$\text{CH}_3\text{C}(=\text{NH})$ $\text{CH}_3\text{C}(=\text{NH}) \rightarrow \text{CH}_3\text{C}(=\text{O})$	20,1—20,6	19,7—20,3		19,6	20,5
$\Delta\delta_{\text{H}}$	+0,28 (H2)	н	н	+0,53 (H5)	+0,13 (H3)
$\Delta\delta_{\text{C}}$	—3,1 (C2)	—3,3 (C3)	—3,2 (C3)	—5,9 (C5)	—4,1 (C3)
$\text{CH}_3\text{C}(=\text{NH}) \rightarrow \text{CH}_3\text{CH}_2$					
$\Delta\delta_{\text{H}}$	—0,57 (H2)	н	н	н	—0,24 (H3)
$\Delta\delta_{\text{C}}$	+4,0 (C2)	+3,7 (C3)	+3,4 (C3)	н	+2,6 (C3)

* По данным работ [1—7, 9, 10] и настоящей работы; н — данные в цитируемых работах не приведены.

доильной группы лежат в узком интервале, и их присутствие в спектрах является характеристическим для этого класса моносахаридов.

Как видно из табл. 3, некоторое отличие наблюдается для сигнала метильной группы в ^1H -ЯМР-спектре соединения (III): он находится при 2,42 м. д., тогда как для остальных изученных N-ацетимидоильных производных эта группа резонирует при 2,17—2,29 м. д. Другая отличительная черта моносахарида (III) — присутствие в ^{13}C -ЯМР-спектре наряду с основным сигналом $\text{CH}_3\text{C}(=\text{NH})$ при 167,8—168,2 м. д. сигнала меньшей интенсивности при 170—170,2 м. д., что обусловлено большей затрудненностью E/Z-перехода ацетамидиновой группы [15] в соединении (III) по сравнению с соединениями (I), (II), (IV) и (VI), в спектрах которых сигнал второго изомера отсутствует. Эти особенности спектральных характеристик, а также химического поведения в реакции восстановительного дезаминирования (см. ниже), очевидно, связаны с аксиальной ориентацией ацетамидиновой группы в моносахаридах (III), в то время как в остальных N-ацетимидоильных производных эта группа находится в экваториальном положении.

При действии слабого основания (водного раствора триэтиламина) N-ацетимидоильное производное (VI) гидролизовалось в соответствующее N-ацетильное производное, идентичное по данным ^1H -ЯМР-спектра соединению, полученному N-ацетилированием моносахарида (VIII). Гидролиз приводил к изменению в ЯМР-спектрах положения сигналов как N-ацильного заместителя (от 2,27 к 2,03 м. д. в ^1H -ЯМР-спектре, от 20,5 и 168,6 к 23,3 и 176,2 м. д. в ^{13}C -ЯМР-спектре), так и несущего аминогруппу атома C3 пиранозного цикла (от 59,5 к 55,4 м. д.) и связанного с ним протона H3 (от 3,86 к 3,99 м. д.) (табл. 1 и 2). Эти данные показывают, что N-ацетимидоилирование вызывает более слабый дезэкранирующий эффект по сравнению с N-ацетилированием.

Моносахарид (VI) не реагировал с натрийборгидридом в воде, но восстанавливался литийборгидридом в 65% водном изопропанол, давая N-этильное производное (X). Восстановительное дезаминирование сопровождалось характерными изменениями в ЯМР-спектрах: исчезновением сигналов N-ацетимидоильной группы, появлением сигналов N-этильной группы δ_{H} 1,35 м. д. (3H, триплет, J 7,5 Гц, CH_3) и 3,32 м. д. (2H, квартет, CH_2); δ_{C} 12,6 м. д. (CH_3) и 43,2 м. д. (CH_2) и смещением сигналов пиранозного цикла (C3 от 59,5 к 62,1 м. д., H3 от 3,86 к 3,62 м. д.).

Щелочной гидролиз и восстановительное дезаминирование олиго- и полисахаридов, включающих в себя соединения (I)—(IV), протекали по тому же пути и приводили к аналогичным продуктам. При этом следует

отметить, что как модельное соединение (VI), так и природные моносахариды (I) и (II), в которых ацетамидиновая группа занимает экваториальное положение, не восстанавливались натрийборгидридом, и для их восстановительного дезаминирования требовался более сильный восстановитель, такой, как литийборгидрид в водном изопропанол [4, 5]. В то же время восстановительное дезаминирование соединения (III) с аксиальным расположением ацетамидиновой группы легко протекало при действии натрийборгидрида в воде [5]. Описанное в литературе восстановительное дезаминирование незамещенных амидинов $RC(=NH)NH_2$ действием натрийборгидрида сопровождалось димеризацией с образованием симметричных вторичных аминов $(RCH_2)_2NH$ [16]; литературные данные по применению этой реакции к N-замещенным амидинам (кроме обсуждаемых в настоящей работе ацетамидиновых производных сахаров) нами не найдены.

Превращения N-ацетимидоильной группы в N-ацетильную и N-этильную группу при щелочном гидролизе и восстановительном дезаминировании природных производных (I)—(IV) сопровождалось изменениями в ЯМР-спектрах, аналогичными отмеченным выше для модельного соединения (VI) и, в частности, такими же по направлению смещениями сигнала атома C, несущего ацетамидиновую группу, и связанного с ним протона (табл. 3). Таким образом, природные N-ацетимидоильные производные аминосахаров и их синтетический аналог обладают сходными химическими и спектральными свойствами, что подтверждает строение моносахаридов этого класса, обнаруженных в качестве компонентов бактериальных полисахаридов. Полученные данные могут быть использованы для идентификации N-ацетимидоильных производных сахаров в других природных углеводах.

Экспериментальная часть

1H -ЯМР-спектры сняты на приборе Bruker WM-250 в D_2O при $30^\circ C$, внутренний стандарт — ацетон (δ 2,24 м. д.). ^{13}C -ЯМР-спектры сняты на приборе Bruker AM-300 в D_2O при $30^\circ C$, внутренний стандарт — метанол (δ 50,15 м. д.). Оптическое вращение определяли на поляриметре Jasco DIP-360 (Япония) в воде при $25^\circ C$. Растворы упаривали в вакууме при $40^\circ C$. Ионообменную хроматографию высокого давления проводили на колонке с катионитом Partisil M9 10/25 SCX в 0,2 М натрий-фосфатном буфере (рН 5,7), выходные кривые построены с помощью УФ-монитора Knauer (ФРГ) при 205 нм. ТСХ выполнена на пластинках Silufol UV 254 (ЧСФР) в системе хлороформ — метанол (9 : 1).

Метил-3,6-дидезокси-3-нитро- α -L-глюкопиранозид (VII) получен из метил- α -L-рамнопиранозида по методу [11]. Выход 35%, т. пл. $141-143^\circ C$ (хлороформ — гексан), $[\alpha]_D -164^\circ$ (с 1).

Метил-3-амино-3,6-дидезокси- α -L-глюкопиранозид (VIII). К раствору 200 мг моносахарида (VII) в 10 мл метанола добавляли 500 мг свежеприготовленного скелетного никеля Ренея [17] и 2—3 капли гидразингидрата, реакционную смесь кипятили до исчезновения исходного соединения (2—3 ч, контроль ТСХ), охлаждали, катализатор отделяли фильтрованием на стеклянном фильтре, фильтрат упаривали, получили моносахарид (VIII). Выход 70%, $[\alpha]_D -140,2^\circ$ (с 0,2).

Метил-3-ацетамидино-3,6-дидезокси- α -L-глюкопиранозид (VI). К раствору 80 мг аминосахара (VIII) в 5 мл абсолютного этанола добавляли 150 мг гидрохлорида этилацетимидата, полученного по методу [14], выдерживали 2 сут при $20^\circ C$, подкисляли 0,1 М раствором хлористого водорода в метаноле до рН 4—5, упаривали, с помощью ионообменной хроматографии выделяли моносахарид (VI). Выход 34%, $[\alpha]_D -60,9^\circ$ (с 0,1).

Метил-3-ацетамидо-3,6-дидезокси- α -L-глюкопиранозид (IX). а) 40 мг соединения (VIII) растворяли в 2 мл абсолютного метанола, добавляли последовательно 0,2 мл абсолютного пиридина и 0,2 мл ацетангидрида, через 15 мин при $20^\circ C$ упаривали, к остатку добавляли толуол, упаривали, получали моносахарид (IX). Выход 80%, $[\alpha]_D -144,1^\circ$ (с 0,1).

б) Раствор 10 мг моносахарида (VI) в 1 мл 5% водного триэтиламина нагревали 3 ч при 60° С, упаривали, остаток растворяли в 2 мл воды, обрабатывали катионитом КУ-2 (H⁺-форма), смолу отделяли фильтрованием, фильтрат упаривали, получали моносахарид (IX). Выход 60%, $[\alpha]_D -140,3^\circ$, (с 0,5).

Метил-3,6-дидезокси-3-этиламино- α -L-глюкопиранозид (X). 20 мг соединения (VI) растворяли в 3 мл 65% водного изопропанола, добавляли при охлаждении до -78° С 40 мг литийборгидрида, нагревали в запаянной ампуле 2 ч при 100° С, подкисляли 1 М уксусной кислотой, упаривали, к остатку трижды добавляли метанол и упаривали, с помощью ионообменной хроматографии выделяли аминсахар (X). Выход 75%, $[\alpha]_D -34,7^\circ$ (с 0,3).

Авторы благодарят А. С. Шашкова за съемку и помощь в интерпретации ЯМР-спектров.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Книрель Ю. А., Виноградов Е. В., Шашков А. С., Дмитриев Б. А., Кочетков Н. К. // Биоорг. химия. 1986. Т. 12. № 12. С. 848—851.
2. Книрель Ю. А., Виноградов Е. В., Парамонов Н. А., Шашков А. С., Кочетков Н. К., Станиславский Е. С., Машилова Г. М. // Биоорг. химия. 1986. Т. 12. № 9. С. 1263—1267.
3. Книрель Ю. А., Парамонов Н. А., Виноградов Е. В., Шашков А. С., Кочетков Н. К. // Биоорг. химия. 1986. Т. 12. № 7. С. 992—994.
4. Knirel Y. A., Vinogradov E. V., Shashkov A. S., Dmitriev B. A., Kochetkov N. K., Stanislavsky E. S., Mashilova G. M. // Eur. J. Biochem. 1987. V. 163. № 3. P. 629—637.
5. Knirel Y. A., Paramonov N. A., Vinogradov E. V., Shashkov A. S., Dmitriev B. A., Kochetkov N. K., Kholodkova E. V., Stanislavsky E. S. // Eur. J. Biochem. 1987. V. 167. № 3. P. 549—561.
6. Kenne L., Lindberg B., Schweds E., Gustafsson B., Holme T. // Carbohydr. Res. 1988. V. 180. № 2. P. 285—294.
7. Vinogradov E. V., Knirel Y. A., Shashkov A. S., Dabrowski J., Kochetkov N. K. // Carbohydr. Res. In press.
8. Häfelinger G. // Chemistry of Amidines and Imidates. / Ed. Patai S. Wiley, London, 1975. P. 1—84.
9. Knirel Y. A., Vinogradov E. V., Shashkov A. S., Dmitriev B. A., Kochetkov N. K., Stanislavsky E. S., Mashilova G. M. // Eur. J. Biochem. 1982. V. 128. № 1. P. 81—90.
10. Knirel Y. A., Vinogradov E. V., Shashkov A. S., Dmitriev B. A., Kochetkov N. K., Stanislavsky E. S., Mashilova G. M. // Eur. J. Biochem. 1983. V. 134. № 2. P. 289—297.
11. Baer H. H., Čapek K. // Can. J. Chem. 1969. V. 47. № 1. P. 99—103.
12. L'vov V. L., Tochamysheva N. V., Shashkov A. S., Dmitriev B. A., Čapek K. // Carbohydr. Res. 1983. V. 112. № 2. P. 233—239.
13. Kozulic B., Reis B., Mildner P. // Anal. Biochem. 1979. V. 94. № 1. P. 36—39.
14. Hunter M. J., Ludwig M. L. // J. Amer. Chem. Soc. 1962. V. 84. № 18. P. 3491—3504.
15. Oszczapowicz J., Raczyńska E., Osek J. // Magnet. Res. Chem. 1986. V. 24. № 1. P. 9—14.
16. Okamoto Y., Kinoshita T. // Chem. Pharm. Bull. 1981. V. 29. P. 1165—1169.
17. Richardson A. C., McLauchlan K. A. // J. Chem. Soc. 1962. № 6. P. 2499—2506.

Поступила в редакцию
15.X.1990

N. A. PARAMONOV, Yu. A. KNIREL, N. K. KOCHETKOV

SYNTHESIS AND PROPERTIES OF METHYL 3-ACETAMIDINO-3,6-DIDEOXY- α -L-GLUCOPYRANOSIDE

N. D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Academy of Sciences
of the USSR, Moscow

Methyl 3-acetamidino-3,6-dideoxy- α -L-glucopyranoside, the first synthetic N-acetimidoyl derivative of an amino sugar, was prepared and its chemical and spectral (NMR) properties were studied. On the basis of the data obtained, structures of the components of several bacterial antigenic polysaccharides containing an N-acetimidoyl group were confirmed.