



УДК 547.455.9.057

ТИОГЛИКОЗИДЫ N-АЦЕТИЛ- И N-ГЛИКОЛИЛНЕЙРАМИНОВОЙ КИСЛОТ КАК ГЛИКОЗИЛДОНОРЫ. СИНТЕЗ 3-АМИНОПРОПИЛГЛИКОЗИДОВ

© 1997 г. Л. А. Симеони*, А. Б. Тузиков, Н. Э. Байрамова[#], Н. В. БовинИнститут биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,
117871, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

Поступила в редакцию 21.06.96 г.

Показано, что защищенные производные этилтиогликозидов N-ацетил- и N-гликолилнейрамино- вой кислот являются эффективными гликозилдонарами в реакции с 3-трифторацетамидопропано- лом, промотируемой парой N-иодсукцинимид/трифторметансульфокислота (или ее триметилсили- ловый эфир) и приводящей к соответствующим аномерным гликозидам с высокими выходами, но умеренной α -стереоселективностью (соотношение α/β -номеров 1/1–2/1). Аналог Neu5Gc-донора, содержащий в положениях O9 и O4 две ацетоксиацетильные группы вместо ацетильных, проявил высокую тенденцию к преимущественному образованию α -аномера. После разделения и снятия за- щитных групп получены соответствующие аминопропилгликозиды, готовые к конденсации с поли- мерным носителем.

Ключевые слова: N-ацетилнейраминовая кислота, N-гликолилнейраминовая кислота, тиоглико- зиды, сиалирование, сиалозиды, спейсерирование.

В предыдущем сообщении [1] нами описан синтез двух защищенных производных (II), (III) β -этилтиогликозида N-гликолилнейрамино- вой кислоты (Neu5Gc) – как доноров остатка Neu5Gc в ре- акциях гликозилирования, промотируемых парой NIS/TFS-OH(TST) [2, 3]. В данной работе описыва- ется гликозилирование 3-трифторацетамидопро- панолола (SpOH) этими производными. Работа явля- ется частью программы по синтезу Neu5Gc-содер- жащих олигосахаридов и неогликоконъюгатов на их основе.

N-Ацетил- и N-гликолилнейраминовые кисло- ты – представители высших девятиуглеродных мо- носахаринов, их структура одновременно отвечает структуре аминасахара, дезоксисахара, кетозы и альдоновой кислоты.

Специфику гликозилирования производными сиаловой кислоты в отличие от гликозилирования обычными гексопиранозами определяет наличие в ней дезоксизвена (в положении C3) вместо так на-

зываемой соучаствующей группы, которая управ- ляет стереохимией гликозилирования и определяет конфигурацию образующейся гликозидной связи. Вследствие этого результатом сиалилирования, как правило, является образование смеси аномеров [4, 5]. Вследствие этого обеспечение максимального выхода сиалозидов с природной α -конфигура- цией становится главной проблемой сиалилирова- ния. Эта проблема особенно остра в случае сиали- лирования первичных гидроксильных групп как простых спиртов, так и сахаров [4, 5].

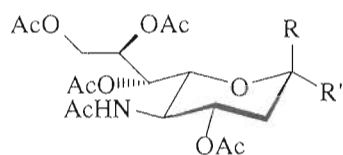
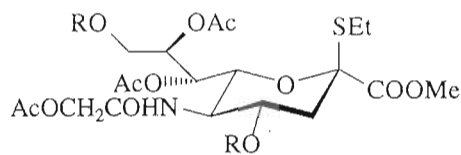
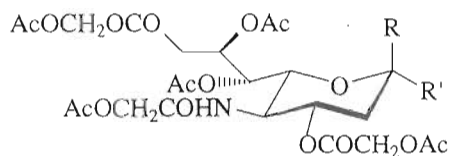
Используемый в данной работе метод гликози- лирования [2, 3], в котором гликозилдонаром явля- ется тиогликозид, а промотором – пара NIS/TFS-OH или NIS/TST, успешно применяется для сиалилиро- вания вторичных гидроксильных групп сахаров [6, 7], с высокой степенью стереоселективности приводя к α -сиалозидам. Однако в случае первич- ных гидроксильных групп, как показал Хасегава [8, 9], использование этого метода приводит к сме- си сиалозидов с высоким содержанием β -аномера.

При сиалилировании простых спиртов, когда спирт служит одновременно растворителем, до- статочна высокая степень образования α -аномера достигается [4, 5] в условиях гликозилирования по Кенигсу–Кнорру, т.е. при использовании “класси- ческого” гликозилдонара – хлорида (IX) в присут- ствии солей серебра. Получение простых гликози- дов Neu5Gc (с выходами 17–47%) с использовани- ем хлорида (X) описано в одной из ранних работ в

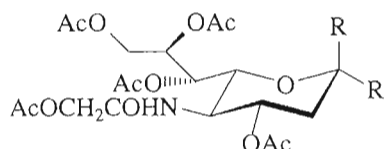
Сокращения: Neu5Ac – N-ацетилнейраминовая кислота, Neu5Gc – N-гликолилнейраминовая кислота, NIS – N-иодсук- цинимид, SpOH – 3-трифторацетамидопропанол, TFS-OH – трифторметансульфокислота, TST – триметилсилиловый эфир трифторметансульфокислоты, FAB-MS (fast atom bombardment mass spectrometry) – масс-спектрометрия с бом- бардировкой ускоренными атомами, КХ – колоночная хро- матография.

* Стипендиат Национального Совета по развитию науки и технологии (CNPq) (Бразилия, Бразилия).

[#] Автор для переписки.

(Ia), (Ib)
(IVa), (IVб)(II) R = Ac
(III) R = COCH₂OAc

(VIa), (VIб)



(Va), (Vб)

(Ia) R' = SEt, R = COOMe
 (IVa), (Va), (VIa) R' = OCH₂CH₂CH₂NHCOCF₃, R = COOMe
 (Iб) R' = COOMe, R = SEt
 (IVб), (Vб), (VIб) R = OCH₂CH₂CH₂NHCOCF₃, R' = COOMe

самом начале развития синтетической химии сиаловых кислот [10]. После этой работы и вплоть до настоящего времени не было сообщений о химическом синтезе простых гликозидов или олигосахаридов N-гликолилнейраминовой кислоты.

Исходя из этих соображений, прежде чем приступить к изучению сиалилирования тиогликозидами (II), (III) первичноспиртовой группы сахаридных гликозилакцепторов, мы решили проверить их в реакции с более простым гликозилакцептором – 3-трифторацетамидопропанолом – спейсерным спиртом (SpOH) [11]. Neu5Ac-тиогликозид (Ia, б) исследовался параллельно с Neu5Gc-тиогликозидами (II), (III) в качестве более доступной модели для выбора оптимальных условий сиалилирования.

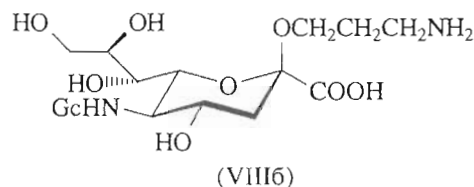
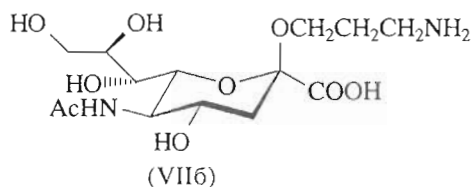
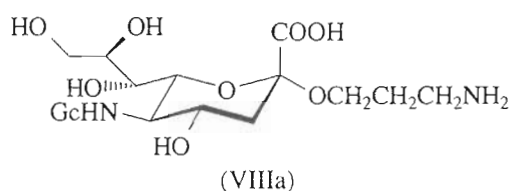
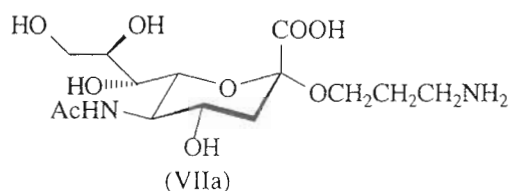
Конденсация метилового эфира (этил-5-ацетамидо-4,7,8,9-тетра-О-ацетил-3,5-дидезокси-2-тио- α,β -D-глицеро-D-галакто-2-нонулопиранозид)оновой кислоты (Ia, б) с 2 экв. гликозилакцептора SpOH в ацетонитриле в присутствии NIS/TST сначала была изучена при различных температурах (0, -45, -60°C). В этих экспериментах использовались либо индивидуальные тиогликозиды (Ia) и (Iб), либо их смеси (Ia, б) с различным соотношением аномеров. В выделенной с помощью КХ суммарной фракции гликозидов (выход 70–80%) с помощью ¹H-ЯМР-спектроскопии определяли соотношение аномеров, которое колебалось в пределах 1/1–2/1. Наилучший выход (89%) Neu5Ac-гликозидов (IVa, б) при соотношении $\alpha : \beta$ 1 : 1 был получен при использовании исходного β -тиогликозида (Iб) при -60°C. Фракционирование смеси с помощью КХ дало индивидуальные защищенные гликозиды (IVa) и (IVб).

Аналогично конденсация метилового эфира (этил-5-ацетоксиацетамидо-4,7,8,9-тетра-О-ацетил-3,5-дидезокси-2-тио- β -D-глицеро-D-галакто-2-нонулопиранозид)оновой кислоты [1] – тиогликозида (II) – со спейсерным спиртом привела к смеси аномеров (Va, б) в соотношении 1/1 с выходом 90%. Индивидуальные аномеры были разделены с помощью КХ и охарактеризованы.

В аналогичных условиях из метилового эфира (этил-5-ацетоксиацетамидо-4,9-ди-О-ацетоксиацетил-7,8-ди-О-ацетил-3,5-дидезокси-2-тио- β -D-глицеро-D-галакто-2-нонулопиранозид)оновой кислоты [1] – тиогликозида (III), отличающегося от тиогликозида (II) наличием ацетоксиацетильных групп вместо ацетильных в положениях O4 и O9, была получена смесь сиалозидов (VIa, б) с высоким содержанием α -аномера ($\alpha : \beta = 7.3 : 1$) и общим выходом 73%.

Строение полученных аномерных пар защищенных производных (IVa, IVб – VIa, VIб) подтверждено данными ¹H-ЯМР и FAB-MS. Отнесение аномерных конфигураций сделано на основании эмпирического правила о характеристичности химического сдвига сигнала H3_e [12, 13], H4 и H8 [14–16] (см. таблицу). У этих соединений сигнал H3_e α -аномера по сравнению с β -аномером смещен в сторону слабого поля на 0.14–0.15 м. д. Хим. сдвиг H4 у α -аномера по сравнению с β -аномером на 0.6–0.8 м. д. смещен в сторону сильного поля. Хим. сдвиг H8 у α -аномеров смещен на 0.18–0.3 м. д. в сторону слабого поля.

Переход от N-ацетильных производных (IVa, б) к N-ацетоксиацетильным (Va, б) также вызывает характеристичное [1] резкое смещение (на 0.68 м. д.) дублета протона при атоме азота



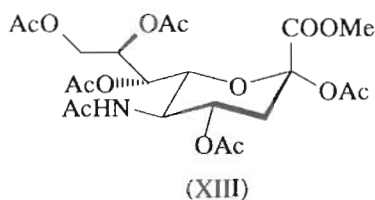
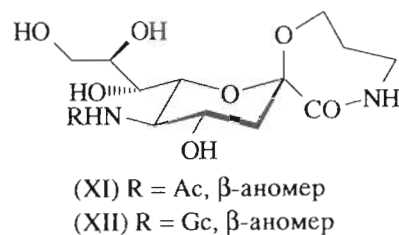
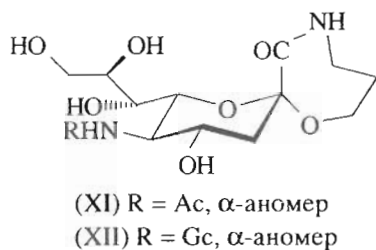
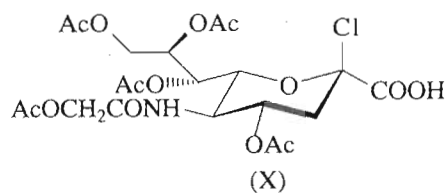
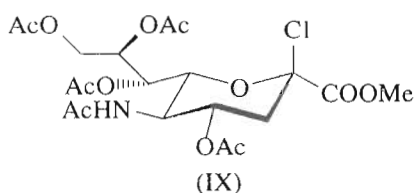
C5-NHGc(Ac) по сравнению с C5-NHAc в сторону слабого поля, а внутри аномерной пары – смещение этого сигнала у β-аномера по сравнению с α-аномером в сторону слабого поля на 0,4–0,5 м. д.

Дезацетилирование α- и β-аномеров (IVa) и (IVб) N-ацетилнейраминового кислоты и α- и

β-аномеров (Va) и (Vб) N-гликолилнейраминового кислоты действием метилата натрия в метаноле с последующим омылением дало соответствующие свободные индивидуальные аминопропилгликозиды (VIIa), (VIIб), (VIIIa), (VIIIб) с выходами 70–80%. Дезацелирование и омыление смеси гликозидов

Данные спектров ¹H-ЯМР-спектров защищенных гликозидов

Соединение	δ, м. д.										
	3 _a	3 _c	4	5	6	7	8	9a	9b	NH	NHCOCF ₃
	дд	дд	ддд	ддд	дд	дд	ддд	дд	дд	д	τ ≈ с
(IVa)	1.893	2.522	4.836	4.022	4.122	5.282	5.348	4.291	3.995	5.126	7.287
(IVб)	1.838	2.379	5.302	3.995	3.994	5.347	5.168	4.794	4.005	5.455	7.462
(Va)	1.890	2.539	4.910	4.005	4.188	5.228	5.350	4.293	3.990	5.804	7.259
(Vб)	1.848	2.398	5.358	4.010	4.000	5.273	5.188	4.791	3.980	6.121	7.369
(VIa)	1.896	2.593	5.007	4.007	4.217	5.217	5.339	4.44	4.054	5.858	7.187
(VIб)		2.447									
Соединение	КССВ, Гц										
	3 _a , 3 _c	3 _a , 4	3 _c , 4	4, 5	5, 6	6, 7	7, 8	8, 9a	8, 9b	9a, 9b	NH, 5
(IVa)	13	13	5	10.5	11	2	8.5	3	5	12.5	10
(IVб)	13	13	5	н. о.	н. о.	3	6.5	2.8	8	12.5	10
(Va)	13	13	4.5	10	11	2	8	2.5	6	12.5	10
(Vб)	13	13	5	11	н. о.	<2	4	3	8	13	10
(VIa)	12.5	12.5	5	10	11	2	8.5	2.8	8.5	13	10
(VIб)	12.5	12.5	5								



(VIa, б) привело к аномерным сиалозидам (VIIa, б), идентичным продуктам, полученным из гликозидов (Va, б) по данным ТСХ и $^1\text{H-NMR}$.

Гликозид (VIIa) был получен также конденсацией хлорида (IX) [16] с 5 экв. спирта SpOH по Кенигсу–Кнорру в хлороформе в присутствии карбоната серебра с последующим O -деацетилизацией и омылением. Из продукта конденсации, содержащего смесь сиалозидов (IVa, б), после снятия защит с выходом 71% (считая на хлорид (IX)) был выделен α-аномер (VIIa), идентичный полученному из тиогликозида (Ia, б).

Интересно, что при депротекции защищенных гликозидов (IVa, б)–(VIa, б) происходит, по-видимому, частичное внутримолекулярное N -ацилирование свободных аминопропилгликозидов (VIIa, б)–(VIIIa, б) в соответствующие лактамы типа (XI)–(XII), обнаруживаемые с помощью ТСХ как минорный нингидринотрицательный продукт с большей хроматографической подвижностью. Действительно, при деионизации на колонке с дауэксом 50W-X4 (H^+ -форма) щелочного раствора продукта омыления нейтральные лактамы (XI)–(XII) снимались с колонки элюцией водой и после повторного омыления давали дополнительное количество гликозидов (VIIa, б)–(VIIIa, б).

Строение свободных аминопропилгликозидов (VIIa, б)–(VIIIa, б) и их аномерная конфигурация подтверждается данными $^1\text{H-NMR}$ -спектров, в которых сохраняются характеристические различия хим. сдвигов H_3^c , H_4 и $\text{C}_5\text{-NHAc}$ и $\text{C}_5\text{-NHGc}(\text{Ac})$ (см. таблицу и “Экспер. часть”).

Таким образом, в изученных условиях сиалирование первичного спирта тиогликозидами N -ацетил- и N -гликолилнейраминовой кислоты протекает с высокой эффективностью, но неудовлетворительным с точки зрения α-селективности стереохимическим результатом. Однако аналог, содержащий в положениях O_4 , O_9 ацетоксиацетильные группы вместо ацетильных, – тиогликозид (III) – дает смесь гликозидов со значительным преобладанием α-аномера.

В настоящее время нами продолжают исследования по изучению влияния заместителей в положениях O_9 и O_4 на стереоселективность сиалирования.

Синтезированные в настоящей работе аминопропилгликозиды N -ацетил- и N -гликолилнейраминовой кислоты могут служить лигандами для иммобилизации на полимерном носителе по методологии, описанной в работе [11]. Неогликоконъюгаты N -ацетилнейраминовой кислоты, получаемые по аналогичной методологии иммобилизации, но с иной спейсерной группой [17], описаны нами в работе [18].

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Спектры $^1\text{H-NMR}$ (δ , м. д., относительно Me_4Si) сняты на спектрометрах WM-500 Bruker (в CDCl_3 для защищенных и в D_2O – для незащищенных производных). Приведены химические сдвиги в миллионных долях и КССВ (J) в герцах. Оптическое вращение измеряли на поляриметре DIP-360

фирмы Jasco при 20°C. Масс-спектры сняты на приборе Kratos, MS 50 TC, FAB TC, газ-реагент – ксенон, энергия 8 кэВ, матрица – глицерин, *m*-нитробензиловый спирт. КХ проводили на силикагеле 60 (Merck), ТСХ – на стеклянных или алюминиевых пластинках с силикагелем 60 (Merck, 5553) в системах: гексан–хлороформ–изопропиловый спирт (ГХИ), гексан–этилацетат–изопропиловый спирт (ГЭИ), пропиловый спирт–этилацетат–вода (ПЭВ), проявление нагреванием после обработки 7% фосфорной кислотой. ВЭЖХ проводили на колонке (10 × 250 мм) с сорбентом Chromarol силасорб 600 (12 мкм) с рефрактометрическим детектором. Ацетонитрил для реакции гликозилирования перегоняли над перманганатом калия в присутствии карбоната калия, затем над пятиокисью фосфора и далее над гидридом кальция. Растворы веществ в хлороформе и бензоле высушивали фильтрованием через слой ваты. NIS получали по методу [19]. Индивидуальные аномеры тиогликозида (Ia, б) получены как описано в работе [1], их смеси в различных соотношениях, получаемые при фракционировании продуктов из разных опытов, объединялись и также использовались для сиаилирования.

Метилловый эфир [(3-трифторацетиламинопропил)-5-ацетиламино-4,7,8,9-тетра-О-ацетил-3,5-дидезокси- α - и - β -D-глицеро-D-галакто-2-нонупиранозид]оновой кислоты (IVa, б). А (при -45°C). Смесь 53.5 мг (100 мкмоль) тиогликозида (Ia, б), 2 мл MeCN, 34.0 мг (200 мкмоль) SpOH и молекулярных сит 4 Å перемешивали 1 ч при комнатной температуре, затем прибавляли 45 мг (200 мкмоль) NIS. Смесь охлаждали до -45°C, добавляли 5.0 мкл (25 мкмоль) TST, перемешивали 45 мин, разбавляли 15 мл хлороформа, фильтровали, фильтрат промывали 1 н. Na₂CO₃ (15 мл), 1 н. Na₂S₂O₃ (2 × 15 мл), водой (2 × 10 мл), высушивали, упаривали. Остаток подвергали КХ в градиенте изопропилового спирта (1 → 7%) в смеси гексан–хлороформ (2 : 1) и получали 47 мг (73%) смеси (α : β = 1.9 : 1) аномеров (IVa, б), ТСХ (ГХИ, 4 : 2 : 1); R_f 0.35; 0.55 (Iб); 0.50 (Ia).

Б (при 0°C). Смесь 81 мг (152 мкмоль) тиогликозида (Ia), 2 мл MeCN, 51 мг (300 мкмоль) SpOH и молекулярных сит 4 Å перемешивали 16 ч при комнатной температуре, прибавляли 67.5 мг (300 мкмоль) NIS, при 0°C добавляли 5.0 мкл (56 мкмоль) TFS-OH и перемешивали 2 ч при этой температуре. Реакционную смесь обрабатывали как описано выше, остаток подвергали КХ и получали 72 мг продукта, который дополнительно очищали с помощью ВЭЖХ в системе ГЭИ (9 : 4 : 1). Получили 68 мг (70%) смеси аномеров (IVa, б) (α : β = 1.5 : 1). ТСХ (ГХИ, 4 : 2 : 1); R_f 0.35.

В (при -60°C). Смесь 60 мг (112 мкмоль) тиогликозида (Iб), 2 мл MeCN, 38.0 мг (224 мкмоль) SpOH и молекулярных сит 4 Å перемешивали 1 ч

при комнатной температуре, затем прибавляли 50 мг (224 мкмоль) NIS. Смесь охлаждали до -60°C, добавляли 5.0 мкл (26 мкмоль) TST, перемешивали 45 мин, разбавляли 15 мл хлороформа, фильтровали, фильтрат промывали 1 н. Na₂CO₃ (15 мл), 1 н. Na₂S₂O₃ (2 × 15 мл), водой (2 × 10 мл), высушивали, упаривали. Остаток подвергали КХ в градиенте изопропилового спирта (1 → 7%) в смеси гексан–хлороформ (2 : 1) и получили 64 мг (89%) смеси гликозидов (IVa, б) (α : β = 1 : 1). Полученную смесь фракционировали КХ в градиенте метилового спирта (1 → 4%) в смеси хлороформ–гексан (1 : 2) и получили 36 мг (41%) β -аномера (IVб), $[\alpha]_D$ -2.8° (с 1.1; хлороформ). Масс-спектр, *m/z*: 645 [M + 1]⁺, 585 [M + 1 - AcOH]⁺, 414 [M + 1 - SpOH - AcOH - AcOH]⁺ (100%). Далее выделяли 32 мг (45%) α -аномера (IVa). $[\alpha]_D$ -17.6° (с 0.6; хлороформ). Масс-спектр, *m/z*: 645 [M + 1]⁺, 585 [M + 1 - AcOH]⁺, 474 [M + 1 - SpOH - AcOH]⁺, 414 [M + 1 - SpOH - AcOH - AcOH]⁺ (100%). ¹H-ЯМР-спектр (250 МГц) (см. также таблицу): α -аномер: 1.88 (с, 3H, NAc), 2.05 (с, 6H, 2 × OAc), 2.185, 2.190 (2 с, каждый по 3H, 2 × OAc), 3.44 (м, 1H, CHb-N, Sp), 3.50 (м, 2H, CHa-N и CHb-O, Sp), 3.858 (м, 1H, CHa-O, Sp), 3.80 (с, 3H, COOMe).

β -Аномер (IVб) (250 МГц): 1.90 (с, 3H, NAc), 2.03 (с, 6H, 2 × OAc), 2.08 (с, 3H, OAc), 2.19 (с, 3H, OAc), 3.40–3.72 (м, 4H, N-CH₂, O-CH₂, Sp), 3.80 (с, 3H, COOMe).

Метилловый эфир [(3-трифторацетиламинопропил)-5-ацетоксиацетиламино-4,7,8,9-тетра-О-ацетил-3,5-дидезокси- α - и - β -D-глицеро-D-галакто-2-нонупиранозид]оновой кислоты (Va, б). Смесь 152 мг (256 мкмоль) тиогликозида (II) [1], 5 мл MeCN, 88 мг (512 мкмоль) SpOH и молекулярных сит 4 Å перемешивали 1 ч при комнатной температуре, охлаждали до -60°C (смесь при этом замораживалась), добавляли 15 мг (512 мкмоль) NIS, при -45°C к начинающей размораживаться смеси добавляли 10 мкл (51 мкмоль) TFS-OH, перемешивали 30 мин, обрабатывали как описано выше и после КХ в градиенте изопропилового спирта в смеси хлороформ–гексан, как описано выше, получали 162 мг (90%) смеси (Va, б). ТСХ (ГХИ, 4 : 2 : 2); R_f 0.53; исходного (II) 0.69.

Фракционированием с помощью КХ в градиенте (0 → 5%) метилового спирта в смеси хлороформ–гексан (1 : 2) получали 30 мг (17%) β -аномера (Vб), $[\alpha]_D$ -8.1° (с 0.4; хлороформ). Масс-спектр, *m/z*: 703 [M + 1]⁺.

Далее получали 57 мг (32%) смеси аномеров. Затем 43 мг (24%) α -аномера (Va), $[\alpha]_D$ -20.6° (с 0.8; хлороформ). Масс-спектр, *m/z*: 703 [M + 1]⁺.

¹H-ЯМР-спектр (см. также таблицу): α-аномер, 1.850 (м, C-CH₂-C, Sp), 1.983, 1.984, 1.999, 2.100, 2.128 (5 с, каждый по 3H, 5 × OAc), 3.450 (м, 2H, CHa-N, CHa-O, Sp), 3.550 (м, 1H, CHb-N, Sp), 3.786 (с, 3H, COOMe), 3.830 (м, 1H, CHb-O, Sp), 4.268 и 4.558 (2 д, каждый по 1H, J 15, CHaCHb-O остатка Gc).

β-Аномер: 1.853 (м, C-CH₂-C), 1.970, 1.982, 2.023, 2.122, 2.143 (5 с, каждый по 3H, 5 × OAc), 3.440 (м, 2H, CHb-N, CHb-O, Sp), 3.580 (м, 1H, CHa-N, Sp), 3.783 (с, 3H, COOMe), 3.990 (м, 1H, CHa-O, Sp), 4.265 и 4.570 (2 д, каждый по 1H, J 15.5, CHaCHb-O остатка Gc).

Метилловый эфир [(3-трифторацетиламинопропил)-5-ацетоксиацетиламинопропил-7,8-ди-О-ацетил-4,9-ди-О-ацетоксиацетил-3,5-дидезокси-α- и -β-D-глицеро-D-галакто-2-нонупиранозид]оно-вой кислоты (VIa, б). Смесь (48 мг, 67 мкмоль) тиогликозида (III), 2 мл MeCN, SpOH (23 мг, 134.5 мкмоль), молекулярных сит 4 Å и NIS (30 мг, 134.5 мкмоль) перемешивали 1 ч при комнатной температуре. Смесь охлаждали до -60°C и добавляли TST (5 мкл, 26 мкмоль), перемешивали 25 мин, убрав охлаждение. Разбавляли 15 мл хлороформом, фильтровали, фильтрат промывали насыщенным раствором Na₂CO₃ (15 мл), 1 н. Na₂S₂O₃ (2 × 10 мл), водой (2 × 10 мл), высушивали, упаривали и получали 55 мг продукта, который подвергали КХ в градиенте изопропилового спирта (1 → 7%) в смеси гексан-хлороформ (2 : 1) и получали 40 мг (73%) смеси (α : β = 7.3 : 1) аномеров (VIa, б), ТСХ (ГХИ, 4 : 2 : 1); R_f 0.47; исходного тиогликозида (III) 0.62. Масс-спектр, m/z: 819 [M + 1]⁺.

¹H-ЯМР-спектр (см. также таблицу): α-аномер, 1.845 (м, -CH₂-, Sp), 2.093, 2.112 × 2, 2.150, 2.124 (4с, 15H, 5 × OAc), 3.434 (м, 3H, CHa-N, CHb-N, CHb-O, Sp), 3.786 (с, 3H, COOMe), 3.805 (м, 1H, CHa-O, Sp), 4.308 и 4.575 (2 д, J 16, АВ-система NCOCHaCHbOAc), 4.453, 4.459 и 4.494, 4.497 (≈4H, сигналы АВ-системы двух ОСОCHaCHbOAc-групп).

3-Аминопропил-(5-ацетиламино-3,5-дидезокси-α- и -β-D-глицеро-D-галакто-2-нонупиранозид)оно-вая кислота (VIIa, VIIб). А. Раствор 130 мг (202 мкмоль) полученных исходя из тиогликозида (Ia, б) трифторацетиламинопропилгликозидов (IVa, б) (α : β = 1.4 : 1) в 4 мл сухого MeOH обрабатывали 100 мкл 2 н. метилата натрия в MeOH в течение 3 ч при комнатной температуре, получали эфиры с R_f 0.60 (ТСХ, ПЭВ, 8 : 6 : 1). MeOH упаривали, к остатку добавляли 1 мл воды и 200 мкл 2 н. метилата натрия в MeOH, оставляли на 16 ч при комнатной температуре. Раствор наносили на колонку с 8 мл дауэкса 50W-X4 (H⁺-форма), промывали колонку водой, затем 1 н. NH₄OH элюировали аминопропилгликозиды (VIIa, б), выход 54 мг (73%). ТСХ

(ПЭВ, 4 : 3 : 3): два нингидринположительных продукта с R_f 0.30 (VIIa) и 0.12 (VII б). Водный элюат, содержащий нингидринотрицательный продукт с R_f 0.65, предположительно лактам (XI), упаривали, остаток выдерживали с 2 н. NaOH, обрабатывали дауэксом 50W-X4 (H⁺-форма), как описано выше, и получали дополнительно еще 5 мг (7%) гликозидов (VIIa, б).

Аналогично проводили О-деацетилирование и омыление индивидуальных аномеров и получали α-аномер (VIIa) {выход 75%, [α]_D -3.7° (с 0.6; вода), масс-спектр, m/z: 367 [M + 1]⁺} и β-аномер (VIIб) {выход 70%, [α]_D -24.8° (с 0.8; вода), масс-спектр, m/z 367 [M + 1]⁺}.

¹H-ЯМР-спектр (D₂O): β-аномер: 1.694 (дд(т), 1H, J_{3a,3c} ≈ J₄ ≈ 12, H3a), 1.976 (м, 2H, -CH₂-, Sp), 2.088 (с, 3H, NAc), 2.383 (дд, 1H, J₄ 5, J_{3e,3a} 13, H3e), 3.122 (м, 1H, NCHb, Sp), 3.241 (м, 1H, NCHa, Sp), 3.386 (м, 1H, OCHb, Sp), 3.579 (дд, J_{6,5} 9, J₇ < 2, H6), 3.690 (дд, J_{9b,9a} 13, J₈ 6.5, H9b), 3.795 (м, 1H, OCHa, Sp), 3.873 (м, 4H, H5, H7, H8, H9a), 4.127 (ддд, 1H, H4); α-аномер: 1.686 (дд(т), J_{3e} = J₄ 12, H3a), 1.955 (м, 2H, -CH₂-, Sp), 2.043 (с, 3H, NAc), 2.722 (дд, J_{3e,3a} 12.5, J₄ 4.5, H3e), 3.131 (т, 2H, NCH₂-, Sp), 3.595 (м, 1H, OCHb, Sp), 3.603 (дд, J_{7,8} 8, H7), 3.646 (дд, J_{9b,9a} 12, J_{9b,8} 6.5, H9b), 3.709 (ддд, 1H, J_{4,3e} 4.5, H4), 3.751 (дд, J_{6,5} 10, J_{6,7} 1.5, H6), 3.824 (дд(т), J_{5,4} ≈ J_{5,6} 10, H5), 3.869 (м, 2H, H8, H9a), 3.872 (м, OCHa, Sp).

Б. Хлорид (IX) получали из эфира (XIII) как описано в работе [16]. К раствору 443 мг (0.830 ммоль) эфира (XIII) в смеси 24 мл хлороформа и 1 мл метанола при 0°C добавляли 3.75 мл хлористого ацетила и оставляли в запаянной ампуле на 36 ч при комнатной температуре. Раствор разбавляли хлороформом, промывали насыщенным раствором NaHCO₃, высушивали, упаривали, остаток высушивали в вакууме и получали хлорид (IX). Его добавляли к перемешиваемой смеси 458 мг (1.66 ммоль) Ag₂CO₃, 711 мг (4.15 ммоль) SpOH и 2 г молекулярных сит 4 Å в 15 мл сухого хлороформа, перемешивали 62 ч при комнатной температуре, фильтровали, промывали 10% раствором KI, водой, высушивали, упаривали и остаток подвергали депротекции.

К раствору остатка в 16 мл MeOH добавляли 0.42 мл 2 н. метилата натрия в MeOH, через 16 ч добавляли 3 мл воды и 0.84 мл 2 н. NaOH, оставляли на 60 ч при комнатной температуре. Раствор наносили на колонку с дауэксом 50W-X4 (H⁺-форма), промывали 100 мл воды, затем 1 н. NH₄OH элюировали гликозид (VIIa), выход 170 мг, R_f 0.22 (ПЭВ, 4 : 3 : 2). Водный элюат, по данным ТСХ (ПЭВ, 4 : 3 : 2) содержащий продукт с R_f 0.55, предположительно лактам (XI), упаривали, остаток выдерживали 72 ч с 2 мл 2 н. NaOH и обрабатывали дауэксом как описано выше, выделяли

еще 46 мг α -гликозида (VIIa) (суммарный выход 71%), R_f 0.08 (ПЭВ, 4 : 3 : 2), идентичного, по данным ^1H -ЯМР, полученному по методу А и содержащего лишь следы β -аномера (VIIб).

3-Аминопропил-(5-гликолиламино-3,5-дидезокси- α - и - β -D-глицеро-D-галакто-2-нонулопиранозид)оновая кислота (VIIIa), (VIIIб). А. К раствору 180 мг (256 мкмоль) смеси (α : β = 1 : 1) гликозидов (Va, б) в 5 мл сухого MeOH добавляли 128 мкл (256 мкмоль) 2 н. метилата натрия в MeOH. Оставляли на 3 ч при комнатной температуре и получали метиловые эфиры гликозидов (VIIIa, б) с R_f 0.65 (ПЭВ, 8 : 6 : 1); R_f исходных ацетатов 0.85. Часть MeOH из раствора упаривали и добавляли 1.3 мл воды и 256 мкл 2 н. метилата натрия. Раствор наносили на колонку с дауэксом 50W-X4 (H^+ -форма), нейтральные продукты смывали водой, далее 1 н. NH_4OH элюировали свободные гликозиды (VIIIa, б), выход 68 мг (70%). Из нейтрального элюата, содержащего лактам (XII), дополнительно, как описано выше, выделяли 7 мг (суммарный выход 77%) гликозидов (VIIIa, б), ТСХ (ПЭВ, 4 : 3 : 3): R_f 0.35 (α -аномер), 0.18 (β -аномер).

Аналогично O-деацетилировали и омыляли индивидуальные аномеры и получали (VIIIa) {выход 72%, $[\alpha]_D -11.1^\circ$ (с 1; вода), масс-спектр, m/z : 383 $[M + 1]^+$ } и (VIIIб) {выход 76%, $[\alpha]_D -22.7^\circ$ (с 0.78; вода), масс-спектр, m/z : 383 $[M + 1]^+$ }.

^1H -ЯМР-спектр: α -аномер: 1.692 (дд(т), $J_{3a,3e} = J_{3a,4} = 12.5$, H3a), 1.937 (м, 2H, $-\text{CH}_2-$, Sp), 2.724 (дд, $J_{3e,3a} 12.5$, $J_{3e,4} 4.5$, H3e), 3.120 (м, 2H, NCH_2 , Sp), 3.575 (м, 1H, ОСНб, Sp), 3.585 (дд, $J_{7,8} 10$, $J_{7,6} 2$, H7), 3.63 (дд, $J_{9b,9a} 12$, $J_{9b,8} 6$, H9b), 3.792 (м, 1H, H4), 3.83–3.92 (м, 5H, H5, H6, H8, H9a, ОСНа), 4.112 (с, 2H, COCH_2OH); β -аномер: 1.661 (дд(т), 1H, $J_{3a,3e} \approx J_{3a,4} \approx 12.5$, H3a), 1.930 (м, 2H, CH_2 , Sp), 2.348 (дд, 1H, $J_{3c,4} 5$, H3c), 3.100 и 3.194 (2 м по 1H, NCHb , NCHa , Sp), 3.344 (ддд, 1H, ОСНб, Sp), 3.520 (дд, $J_{7,8} 10$, $J_{7,6} < 1$, H7), 3.650 (дд, $J_{9a} 12.5$, $J_8 5.5$, H9b), 3.740 (ддд, 1H, ОСНа, Sp), 4.122 (с, 2H, COCH_2OH), 3.825 (м, 2H, $J_{9a,9b} 12.5$, H8, H9a), 3.920 (м, 2H, H5, H6), 4.179 (ддд, 1H, H4).

Б. Раствор 39.5 мг (48 мкмоль) полученной как описано выше смеси (α : β = 7.3 : 1) гликозидов (VIa, б) в 960 мкл сухого MeOH обрабатывали 3 ч 24 мкл 2 н. метилата натрия в MeOH при комнатной температуре, получали метиловые эфиры с R_f 0.63 (ПЭВ, 8 : 6 : 1). Часть MeOH упаривали, к остатку добавляли 240 мкл воды и 48 мкл 2 н. метилата натрия в MeOH, оставляли на 16 ч при

комнатной температуре, наносили на колонку с дауэксом 50W-X4 (H^+ -форма), промывали водой, элюированием 1 н. NH_4OH получали NeuGc-производные (VIIIa, б) {выход 13.5 мг (73%), ТСХ (ПЭВ, 4 : 3 : 3): R_f 0.35 (α -аномер), 0.18 (β -аномер)}, идентичные, по данным ^1H -ЯМР, полученным из гликозидов (Va, б).

Авторы выражают глубокую благодарность А.С. Шашкову (ИОХ РАН) и И.В. Масленникову (ИБХ РАН) за съемку спектров ЯМР и А.В. Сулиме (ИБХ РАН) за съемку спектров FAB-MS.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Симеони Л.А., Байрамова Н.Э., Бовин Н.В. // Биоорганич. химия. 1996. Т. 22. С. 611–617.
2. Konradsson P., Udodong U.E., Fraser-Reid B. // Tetrahedron Lett. 1990. V. 31. P. 4313–4316.
3. Veeneman G.H., Van Leeuwen S.H., Van Boom J.H. // Tetrahedron Lett. 1990. V. 31. P. 1331–1334.
4. Okamoto K., Goto T. // Tetrahedron. 1990. V. 17. P. 5835–5857.
5. DeNinno M.P. // Synthesis. 1991. P. 583–593.
6. Murase T., Ishida H., Kiso M., Hasegawa A. // Carbohydr. Res. 1989. V. 188. P. 71–80.
7. Hasegawa A., Ohki H., Ishida H., Kiso M. // Carbohydr. Res. 1991. V. 212. P. 277–281.
8. Kiso M., Katagiri H., Furui H., Ando K., Ishida H., Hasegawa A. // J. Carbohydr. Chem. 1994. V. 13. P. 163–174.
9. Prabhanjan H., Kiso M., Hasegawa A. // Carbohydr. Res. 1991. V. 222. P. C1–C4.
10. Meindl P., Tuppy H. // Monats. Chem. 1966. V. 97. P. 654–661.
11. Bovin N.V., Korchagina E.Yu., Zemlyanukhina T.V., Byramova N.E., Galanina O.E., Zemlyakov A.E., Ivanov A.E., Zubov V.P., Mochalova L.V. // Glycoconj. J. 1992. V. 10. P. 142–151.
12. Haverkamp J., van Halbeek H., Dorland L., Vliegert-hart J.F.G., Pfeil R., Schauer R. // Eur. J. Biochem. 1982. V. 122. P. 305–311.
13. Paulsen H., Tietz H. // Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 1982. V. 99. P. 927–928.
14. Murase T., Ishida H., Kiso M., Hasegawa A. // Carbohydr. Res. 1988. V. 184. P. C1–C4.
15. Hasegawa A., Nagahama T., Ohki H., Hotta K., Ishida H., Kiso M. // J. Carbohydr. Chem. 1991. V. 10. P. 493–498.
16. Byramova N.E., Tuzikov A.B., Bovin N.V. // Carbohydr. Res. 1992. V. 237. P. 161–175.
17. Byramova N.E., Mochalova L.V., Belyanchikov I.M., Matrosovich M.N., Bovin N.V. // J. Carbohydr. Chem. 1991. V. 10. P. 691–700.
18. Matrosovich M.N., Mochalova L.V., Marinina L.V., Byramova N.E., Bovin N.V. // FEBS Lett. 1990. V. 272. P. 209–212.
19. Gottardi W. // Monats. Chem. 1975. V. 109. P. 1019–1025.

Thioglycosides of *N*-Acetyl- and *N*-Glycolylneuraminic Acid as Glycosyl Donors. Synthesis of 3-Aminopropylglycosides

L. A. Simeoni, A. B. Tuzikov, N. E. Byramova, and N. V. Bovin

*Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences,
ul. Miklukho-Maklaya 16/10, GSP-7 Moscow, 117871 Russia*

Abstract—Protected derivatives of ethylthioglycosides of *N*-acetyl- and *N*-glycolylneuraminic acid were shown to be efficient glycosyl donors in the reaction with 3-trifluoroacetamidopropanol promoted with a *N*-iodosuccinimide–trifluoromethanesulfonic acid (or its trimethylsilyl ester) pair. This reaction led to high yields of the corresponding anomeric glycosides; however, its α -stereoselectivity was only moderate: α : β ratio was from 1 : 1 to 2 : 1. An analog of the Neu5Gc-donor with the O9 and O4 acetyl groups substituted by acetoxyacetyl groups manifested a high tendency to the predominant formation of the α -anomer. Separation of the anomers and their deprotection gave the corresponding aminopropylglycosides ready for further condensation with a polymer carrier.

Key words: *N*-acetylneuraminic acid, *N*-glycolylneuraminic acid, thioglycosides; sialylation, sialosides; spacers.