



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **44147** (13) **U**
(51) МПК (2009)
C07H 15/04 (2009.01)
C07H 5/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ АНАЛОГІВ МУРАМОВОЇ КИСЛОТИ І ЇХНІХ ПОХІДНИХ

1

(21) u200901973
(22) 05.03.2009
(24) 25.09.2009
(46) 25.09.2009, Бюл. № 18, 2009 р.
(72) ПЕРТЕЛЬ СЕРГІЙ СТЕПАНОВИЧ, МИХАЙ-
ЛИЧЕНКО СЕРГІЙ СЕРГІЙОВИЧ, КАКАЯН ОЛЕНА
СЕРКІСІВНА, ЧИРВА ВАСИЛЬ ЯКОВИЧ
(73) ТАВРІЙСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИ-
ТЕТ ІМ. В.І.ВЕРНАДСЬКОГО
(57) Спосіб одержання аналогів мурамової кислоти
і їхніх похідних, що містить 3-О-алкілювання захи-
щеного похідного N-ацетил-D-глюкозаміну, який
відрізняється тим, що цільові речовини синтезу-

2

ють шляхом внутрімолекулярного 3-О-алкілювання
в попередньо отримуваних похідних N-
ацильованого D-глюкозаміну, в яких як N-ацильний
залишок присутній фрагмент α -галогенкарбонової
кислоти, для чого ці сполуки обробляють розчином
трет-бутилату калію в трет-бутиловому спирті,
отримані лактами ацетилують надлишком аце-
тилхлориду в присутності етилдіізопропіламіну,
після чого отримані N-ацетильні похідні піддають
метанолізу при дії метанольного розчину метилату
натрію або розчину триетиламіну в метанолі.

Корисна модель відноситься до методів син-
тезу нормурамової і ізомурамової кислот і їхніх
похідних.

Як відомо, мурамова кислота входить до скла-
ду повторюваної ланки бактеріального пептидоглі-
кану [1. Савельев Е.П., Петров Г.И. Молекулярные
аспекты строения клеточной стенки бактерий / В
кн.: Успехи биологической химии. - М.: Наука,
1978. - Т. 19. - С. 106-129]. Її пептидні похідні, т.зв.
мурамілпептиди, мають широкий спектр біологіч-
ної активності, до найважливіших видів якої відно-
ситься імунomodуюча дія, а також сомногенна
активність. У зв'язку із цим мурамілпептиди і їхні
аналоги, такі як похідні нормурамової кислоти
(нормурамілпептиди) розглядаються в якості пер-
спективних антиінфекційних лікарських засобів і
використовуються в медико-біологічних дослі-
дженнях і в медичній практиці, зокрема як імуно-
ад'юванти в складі вакцин, а також для лікування
імунodefіцитних станів [2. Pabst M.J., Beranova-
Giorgianni S., Krueger J.M. Effects of muramyl pep-
tides on macrophages, monokines, and sleep // *Neuroimmunomodulation*. - 1999. - V. 6. - P. 261-283;
3. Khaitov R.M., Pinegin B.V., Butakov A.A., An-
dronova T.M. Immunotherapy of infectious postopera-
tive complications with glucosaminylmuramyl dipep-
tide / In.: *Immunotherapy of Infectious*. - Ed.: N.
Masihi. - Marcel Dekker, Inc.: N.Y., Basel, Hong
Kong, 1994. - P. 205-211].

З іншого боку, у зв'язку з тим, що біосинтез ба-
ктеріального пептидоглікану здійснюється за учас-
тю ферментів, що використовують як субстрат
похідні мурамової кислоти, модифіковані похідні
мурамової кислоти і її аналогів, можуть мати здат-
ність інгібувати біосинтез пептидоглікану бакте-
ріальної клітинної стінки. Як відомо, дія більшості
застосовуваних антибіотиків, таких як глікопептиди
(ванкоміцин), β -лактами (пеніциліни), а також ба-
цитрацин, D-циклосерин, фосфоміцин і ін., також
засновано на блокуванні біосинтезу пептидогліка-
ну бактеріальної клітинної стінки. Тому похідні й
аналоги мурамової кислоти з подібною активністю
можуть бути використані при розробці нових анти-
біотиків, а при наявності вираженого антибактері-
ального ефекту в якості принципово нових антиін-
фекційних препаратів.

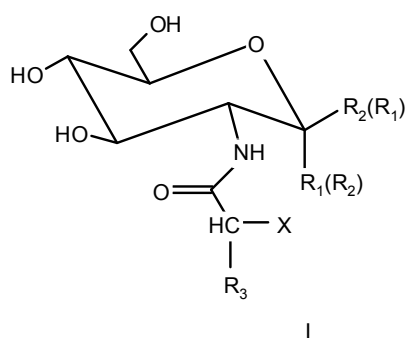
Ключовою стадією в синтезі мурамової кисло-
ти, її аналогів і похідних, описаному у ряді робіт [4.
Strange R.E., Kent L.H. The isolation, characteriza-
tion and chemical synthesis of muramic acid // *Bioch*.
- 1959. - V. 71. - P. 333-339; 5. Matsushima Y., Park
J.T. Stereospecific synthesis of 2-amino-3-O-(D-1'-
carboxyethyl)-2-deoxy-D-glucose (muramic acid) and
related compounds // *J. Organ. Chem.* - 1962. - V. 27.
- N. 10. - P. 3581-3583; 6. Flowers H.M., Jeanloz
R.W. // The synthesis of 2-acetamido-3-O-(D-1'-
carboxyethyl)-2-deoxy- α -D-glucose (N-acetylmuramic
acid) and of benzyl glycoside derivatives of 2-amino-

(13) **U**

(11) **44147**

(19) **UA**

3-O-(D-1-carboxyethyl)-2-deoxy-D-glucopyranose (muramic acid) // J. Organ. Chem. - 1963. - V. 28. - N. 11. - P. 2983-2986; 7. Gigg R., Carroll P.M. // A convenient synthesis of muramic acid and other 3-O-ethers of D-glucosamine // Nature. - 1961. - V. 191. - N. 4787. - P. 495-496; 8. Paulsen H., Himpkamp P., Peters T. Synthese von 1,6-anhydromuramylpeptiden // Liebigs Ann. Chem. - 1986. - P. 664-674; 9. Kinzy W., Schmidt R.R. Muraminsäure als glycosyldonor und -akzeptor // Liebigs Ann. Chem. - 1987. - P. 407-415; 10. Ragoussis V., Leondiadis L., Livanou E., Evangelatos G.P. A simple approach to the synthesis of muramic acid and isomuramic acid: ^1H and ^{13}C NMR characterization // Carbohydrate Res. - 1997. - V. 297. - P. 289-295; 11. Gross P.H., Rimpler M. Stereochemically pure derivatives of muramic and isomuramic acids // Liebigs Ann. Chem. - 1986. - N. 1. - P. 37-45; 12. Jeanloz R.W., Walker E., Sinay P. Synthesis of various glycosides of 2-amino-3-O-(D-1-carboxyethyl)-2-deoxy-D-glucopyranose (muramic acid) // Carbohydrate Res. - 1968. - V. 6. - N. 2. - P. 184-196; 13. Kusumoto S., Masahiro I., Ogiku T., Shiba T. Synthesis of $\beta(1\rightarrow4)$ -linked disaccharides of N-acetylglucosamine and N-acetylmuramic acid by their direct condensation // Bull. Chem. Soc. Jpn. - 1986. - V. 59. - P. 1419-1423], є 3-O-алкілювання захищеного похідного N-ацетил-О-глюкозаміну α -галогенкарбоною кислотою (як правило α -L-хлорпропіонова кислота), її ефіром або похідним α -оксикарбонової кислоти (наприклад, тозилат L-молочної кислоти) по методу Вільямсона. Основний недолік такого підходу, заснованого на міжмолекулярному алкілюванні, пов'язаний з використанням досить жорстких умов алкілювання (витримування реакційної суміші в присутності надлишку NaH 1 годину при 60-90 °C на стадії утворення натрієвого алкоколята й 5-16 годин при 60-65 °C на стадії алкілювання), що приводить до деструкції лабільних сполук.

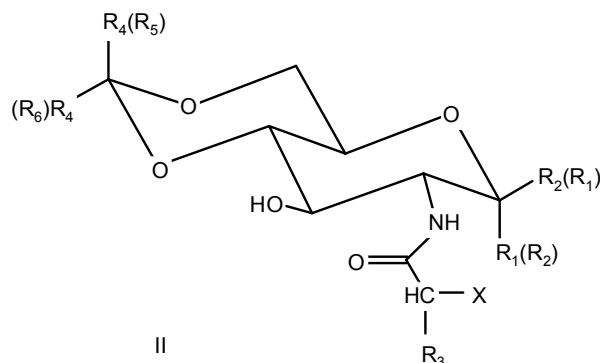


$R_1 = \text{OAlk, OAr, SAlk, SAr}$
 $R_2 = \text{H}$
 $R_3 = \text{H, CH}_3$

Далі отримана сполука обробляється розчином трет-бутилату калію в трет-бутиловому спирті, що приводить до внутрімолекулярного 3-O-

В основу корисної моделі покладена розробка нового методу синтезу похідних нормурамової і ізоурамової кислот, у якому алкілювання похідного D-глюкозаміну здійснюється в більш м'яких умовах у порівнянні з існуючими методиками. Як найближчий аналог обраний спосіб одержання мурамової і ізоурамової кислот, приведений у роботах [11. Gross P.H., Rimpler M. Stereochemically pure derivatives of muramic and isomuramic acids // Liebigs Ann. Chem. - 1986. - N. 1. - P. 37-45; 12. Jeanloz R.W., Walker E., Sinay P. Synthesis of various glycosides of 2-amino-3-O-(D-1-carboxyethyl)-2-deoxy-D-glucopyranose (muramic acid) // Carbohydrate Res. - 1968. - V. 6. - N. 2. - P. 184-196; 13. Kusumoto S., Masahiro I., Ogiku T., Shiba T. Synthesis of $\beta(1\rightarrow4)$ -linked disaccharides of N-acetylglucosamine and N-acetylmuramic acid by their direct condensation // Bull. Chem. Soc. Jpn. - 1986. - V. 59. - P. 1419-1423], оснований на методіке Flowers и Jeanloz [6. Flowers H.M., Jeanloz R.W. // The synthesis of 2-acetamido-3-O-(D-1-carboxyethyl)-2-deoxy- α -D-glucose (N-acetylmuramic acid) and of benzyl glycoside derivatives of 2-amino-3-O-(D-1-carboxyethyl)-2-deoxy-D-glucopyranose (muramic acid) // J. Organ. Chem. - 1963. - V. 28. - N. 11. - P. 2983-2986].

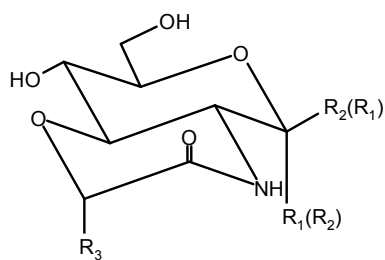
Сутність корисної моделі полягає в тому, що синтез аналогів мурамової кислоти і їхніх похідних проводиться шляхом внутрімолекулярного алкілювання, що дозволяє одержувати цільові речовини в більш м'яких умовах. Спосіб здійснюють таким чином: за допомогою стандартних методів хімії вуглеводів попередньо синтезується похідне N-ацильованого D-глюкозаміну, що відповідає структурам (I) або (II), у яких у якості N-ацильного залишку присутній фрагмент α -галогенкарбонової кислоти.



$R_4 = \text{CH}_3$
 $R_5 = \text{H}$
 $R_6 = \text{Ph}$
 $X = \text{Cl, Br, I}$

алкілювання й утворення лактамів нормурамової і ізоурамової кислот, що відповідають структурам (III) і (IV).

5

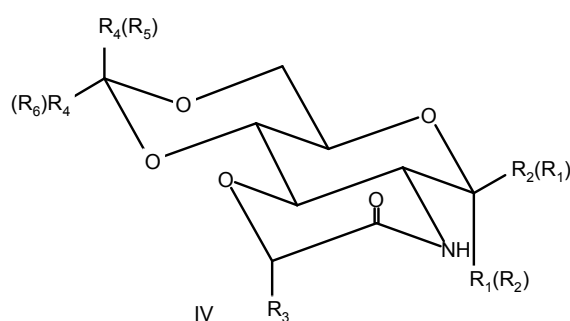


III

$R_1 = \text{OAlk, OAr, SAlk, SAr}$
 $R_2 = \text{H}$
 $R_3 = \text{H, CH}_3$

44147

6

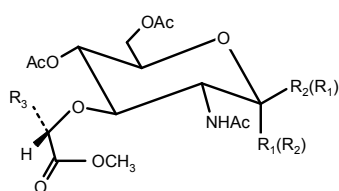


IV

$R_4 = \text{CH}_3$
 $R_5 = \text{H}$
 $R_6 = \text{Ph}$

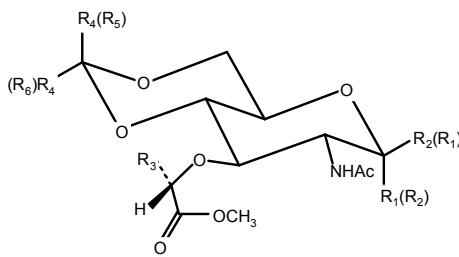
Для синтезу похідних метилових ефірів нормурамової і ізурамової кислот отримані лактами (III) або (IV) ацетилюються надлишком ацетилхлориду в присутності етилдіізопропіламіну. Потім отримані N-ацетильні похідні піддаються метано-

лізу при дії метанольного розчину метилата натрію або розчину триетиламіну в метанолі, і ацетилюються у разі необхідності, у результаті чого утворюються цільові продукти, що відповідають структурам (V) і (VI).



V

$R_1 = \text{OAlk, OAr, SAlk, SAr}$
 $R_2 = \text{H}$
 $R_3 = \text{H, CH}_3$

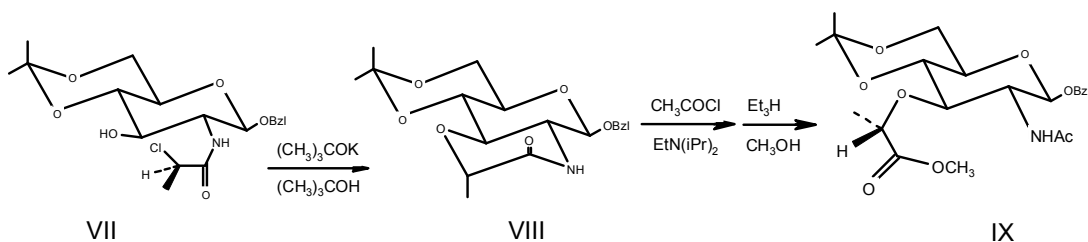


VI

$R_4 = \text{CH}_3$
 $R_5 = \text{H}$
 $R_6 = \text{Ph}$

Приклад 1

Бензил-2-ацетамідо-2-дезоксид-4,6-O-ізопропіліден-3-O-[(L)-1-(метоксикарбоніл)-етил]-β-D-глюкопіранозид (IX)



VII

VIII

IX

До розчину 141 мг (1,26 ммоль) трет-бутилата калію в 5 мол безводного трет-бутилового спирту додавали 150 мг (0,42 ммоль) похідного (VII) і перемішували (≈5 годин) суміш на магнітній мішалці до зникнення вихідного, контролюючи хід взаємодії за допомогою тонкошарової хроматографії (ТШХ) у системі хлороформ-етанол 10:0,5 (об.). Після завершення процесу надлишок основи нейтралізували метанольним розчином перхлорату піридинія, відфільтрували осад, що виділився, і упарювали розчин у вакуумі. Сухий залишок двічі

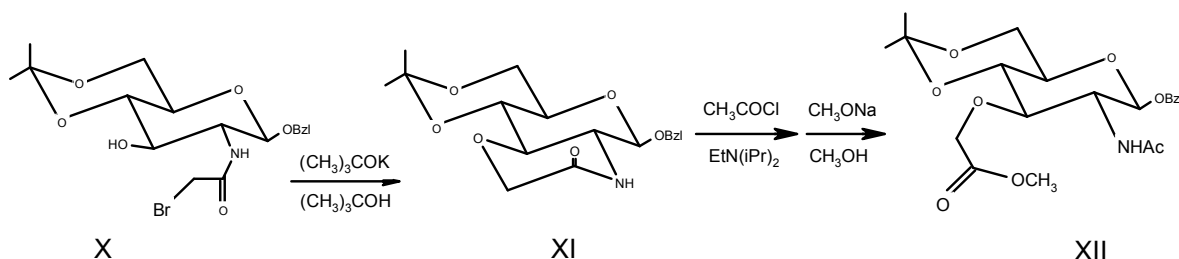
співупарювали з толуолом до зникнення запаху піридину. Продукт виділяли методом колонкової хроматографії на силікагелі, використовуючи в якості елюенту суміш хлороформу з етанолом 100:0,5→100:2 (об.). Отриманий лактам (VIII) (120 мг) розчиняли в 5 мл безводного тетрагідрофурану (ТГФ) і додавали до отриманого розчину 1130 μL (20 екв.) етилдіізопропіламіну і 356 μL (15 екв.) ацетилхлориду. Хід взаємодії контролювали за допомогою ТШХ у системі хлороформ-етанол 10:0,5 (об.). Після завершення процесу (≈1 година)

розчин упарювали й двічі співупарювали з толуолом. Залишок розчиняли в 5 мл абсолютного метанолу й додавали до отриманого розчину 100 μ L Et₃N. Хід реакції контролювали за допомогою ТШХ у системі хлороформ-етанол 10:0,5 (об.). Через 12 годин, після завершення процесу, розчин упарювали, залишок розділили за допомогою колонкової хроматографії на силікагелі, використовуючи сис-

тему хлороформ \rightarrow хлороформ-етанол 100:1 (про.). Отримали 139 мг (85 %) продукту (IX)

Приклад 2

Бензил-2-ацетамідо-2-дезоксиглюкопіранозид-3-О-[(метоксикарбоніл)-метил]- β -D-глюкопіранозид (XII)

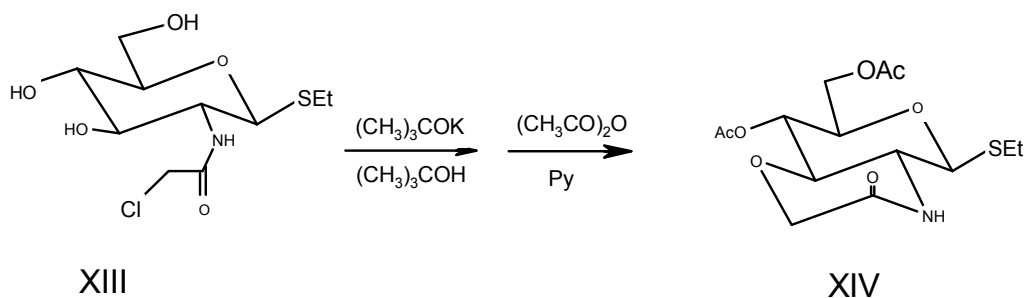


До розчину 103 мг (0,92 ммоль) трет-бутилату калію в 4 мол безводного трет-бутилового спирту додавали 150 мг (0,32 ммоль) похідного (X) і перемішували суміш на магнітній мішалці до зникнення вихідного (\approx 5 годин), контролюючи хід взаємодії за допомогою ТШХ у системі хлороформ-етанол 10:0,5 (об.). Після завершення процесу надлишок основи нейтралізували метанольним розчином перхлорату піридинія, відфільтрували осад, що виділився, і упарювали розчин у вакуумі. Сухий залишок двічі співупарювали з толуолом до зникнення запаху піридину. Продукт виділяли методом колонкової хроматографії на силікагелі, використовуючи в якості елюенту суміш хлороформу з етанолом 100:0,5 \rightarrow 100:2 (об.). Отриманий лактам (XI) (109 мг) розчиняли в 5 мл безводного ТГФ і додавали до отриманого розчину 1061 μ L (20 екв.) етилдіізопропіламіну і 355 μ L (15 екв.) аце-

тилхлориду. Хід взаємодії контролювали за допомогою ТШХ у системі хлороформ-етанол 10:0,5 (об.). Після завершення процесу (\approx 1 година) розчин упарювали й двічі співупарювали з толуолом. Залишок розчиняли в 5 мл абсолютного метанолу й додавали до отриманого розчину металний розчин метилата натрію до pH=9. Через 1 годину реакційну суміш обробляли катіонітом КУ-2 у H⁺ формі до нейтралізації, розчин фільтрували й упарювали у вакуумі. Залишок розділяли за допомогою колонкової хроматографії на силікагелі, використовуючи систему хлороформ \rightarrow хлороформ-етанол 100:1 (об.). Отримали 129 мг (87 %) продукту (XII)

Приклад 3

Етил-4,6-ди-О-ацетил-2-дезоксиглюкопіранозид-1'-лактам (XIV)



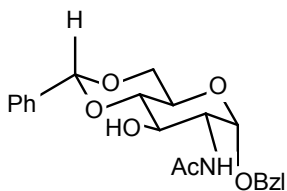
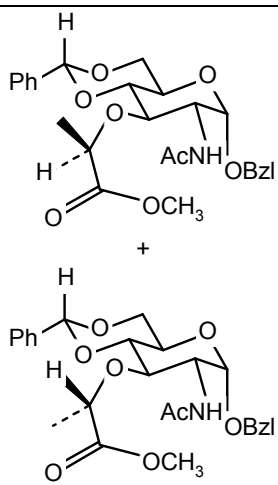
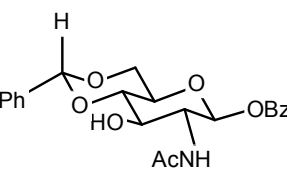
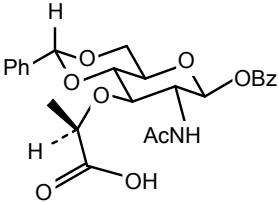
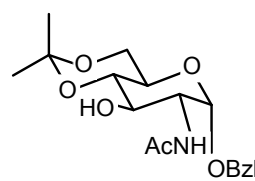
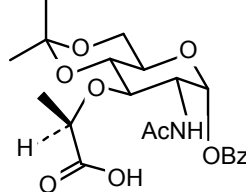
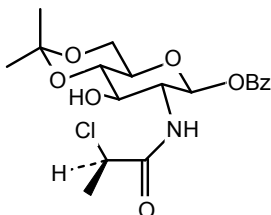
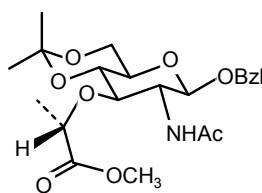
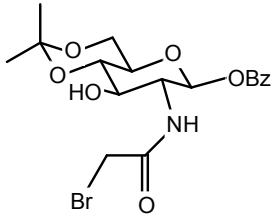
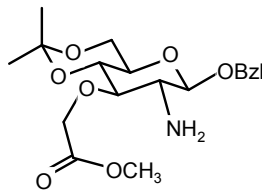
До 4,2 мл безводного трет-бутилового спирту додавали 150 мг (0,5 ммоль) похідного (XIII) і 1,2 мл 1,24 М розчину трет-бутилату калію в трет-бутиловому спирті. Суміш перемішували на магнітній мішалці, контролюючи хід взаємодії за допомогою ТШХ у системі хлороформ-метанол 10:2 (об.). Після завершення реакції суміш нейтралізували 60 μ L крижаної оцтової кислоти й упарювали у вакуумі. Сухий залишок розчиняли в 5 мл піридину, додавали 3 мл оцтового ангідриду й нагрівали отриману суміш при 90 $^{\circ}$ C у перебігу 15 хв. Потім розчин упарювали у вакуумі й двічі співупарювали

з толуолом. Сухий залишок розчиняли в 20 мл хлороформу й тричі промивали рівним об'ємом води. Органічну фазу відокремлювали, висушували безводним Na₂SO₄ і упарювали у вакуумі. Залишок розділяли за допомогою колонкової хроматографії на силікагелі, елюючи сумішшю хлороформ \rightarrow хлороформ-етанол 100:2 (про.). Одержали 108 мг (61 %) лактаму (XIV)

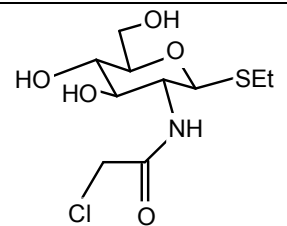
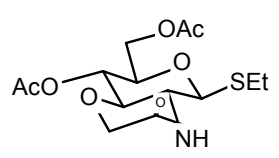
У таблиці 1 представлені експериментальні дані, що дозволяють порівняти умови синтезу похідних мурамової кислоти за допомогою внутрі- і міжмолекулярного алкілювання.

Таблиця 1

Умови синтезу похідних мурамової кислоти за допомогою внутрі- і міжмолекулярного алкілювання

№ п/п	Похідне D-глюкозаміну	α -галоген-карбонова кислота	Основа	Температура і час взаємодії	Продукт	Вихід (%)
Приклади по найближчих аналогах						
1 [11]		(R,S)-2-хлорпропіонова кислота	NaH	1 година при 80 °C і 2 години при 65 °C	 +	93
2 [12]		(S)-2-хлорпропіонова кислота	NaH	7 годин при 95 °C і 17 годин при 65 °C		58
3 [13]		(S)-2-хлорпропіонова кислота	NaH	2 години при 60 °C		82
Приклади по корисній моделі						
4		-	(CH ₃) ₃ СОК	5 годин при 20 °C		85
5		-	(CH ₃) ₃ СОК	5 годин при 20 °C		87

Продовження таблиці 1

6		-	$(\text{CH}_3)_3\text{COK}$	5 годин при 20 °C		61
---	---	---	-----------------------------	-------------------	---	----

Приведені дані свідчать про те, що синтез похідних мурамової кислоти шляхом внутрімолекулярного алкілювання за способом, що

заявляється, може бути здійснено у відносно м'яких умовах, що мінімізує деструкцію лабільних сполук.