



УДК 547.624'122 : 543.422.23

СИНТЕЗ И ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТОДОМ ^{13}C -ЯМР СУЛЬФАТОВ
МЕТИЛ-3-О-МЕТИЛ- α -D-МАННОПИРАНОЗИДА

Усов А. И., Яроцкий С. В., Васянина Л. Е.

*Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского Академии наук СССР**Московский государственный педагогический институт
им. В. И. Ленина, Москва*

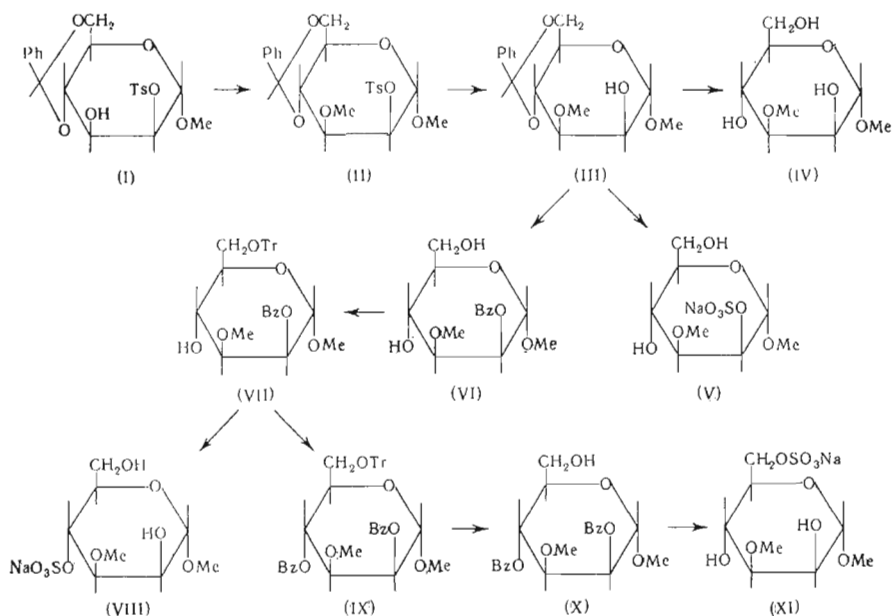
Синтезированы метил-3-О-метил- α -D-маннопиранозид и три его изомерных сульфата. Изучением полученных соединений методом ^{13}C -ЯМР показана возможность определения положения сульфатных групп в моносахариде. Исследовано влияние пространственного положения сульфатных групп на химические сдвиги сигналов атомов углерода метилгликозида.

Метод ^{13}C -ЯМР в настоящее время становится мощным инструментом для определения строения углеводов. Имеется большое количество работ, посвященных отнесению сигналов в спектрах ^{13}C -ЯМР для моносахаридов и их различных производных, олиго- и полисахаридов. Накопившийся материал позволяет сделать некоторые обобщения и установить закономерности для ряда типов соединений. Так, показано, что метилирование гидроксильной группы в молекуле моносахарида вызывает сдвиг сигнала соответствующего атома углерода на 8—11 м.д. в слабое поле [1, 2] и что O-гликозилирование приводит к аналогичному результату, хотя и с некоторыми отклонениями [3, 4]. Такая зависимость дает возможность моделировать, с некоторыми допущениями, спектры полисахаридов с различными типами связей между моносахаридными звеньями и заместителями, используя соответствующим образом замещенные метилированные метилгликозиды моносахаридов. Этот прием может в значительной степени облегчить расшифровку сложных спектров полисахаридов (ср. [3]).

Имеющиеся работы [5—7] по расшифровке ^{13}C -ЯМР-спектров мукополисахаридов показывают, что этот метод может принести неоценимую пользу при изучении структур сложных сульфатированных полисахаридов. Однако его широкому применению препятствует недостаточная изученность спектров сульфатированных моносахаридов. Имеется всего одна работа [8], в которой описаны спектры ^{13}C -ЯМР 3- и 6-сульфатов D-глюкозы; из этих данных трудно сделать общие выводы о влиянии сульфатной группы на химические сдвиги сигналов C-атомов в спектрах моносахаридов. Спектры O-метилированных сульфатов моносахаридов не исследованы вообще. Исходя из этого, для подхода к изучению структур сульфатированных полисахаридов с помощью ^{13}C -ЯМР полезно, на наш взгляд, предварительно анализировать спектры соответствующих производных моносахаридов, моделирующих различные звенья цепи полисахарида.

В частности, в данной работе проведен синтез и изучены спектры ^{13}C -ЯМР метил-3-О-метил- α -D-маннопиранозида и трех его изомерных сульфатов. Эти вещества моделируют звенья цепи полисахарида из красной морской водоросли *Nemalion vermiculare* Sur., представляющего собой, по данным химических методов установления строения, линейный α -1 \rightarrow 3-D-маннопиранан, в котором каждый третий моносахаридный остаток имеет сульфатную группу при C₍₆₎ или C₍₄₎ [9].

Синтез метил-3-О-метил- α -D-маннопиранозида (IV) и его сульфатированных производных (V), (VIII), (XI) был выполнен по следующей схеме.



Метил-4,6-О-бензилиден-2-О-тозил- α -D-маннопиранозид (I), полученный по методу [10], метилировали по методу Пурди [11] и после детозилирования получили метил-4,6-О-бензилиден-3-О-метил- α -D-маннопиранозид (II), который после удаления бензилиденовой группы дал метил-3-О-метил- α -D-маннопиранозид (IV). Сульфатирование (III) хлорсульфоновой кислотой в пиридине [12] с последующим снятием бензилиденовой группировки автогидролизом кислой формы сульфата моносахарида [13] привело к 2-сульфату метил-3-О-метил- α -D-маннопиранозида (V). Бензоилирование (III), удаление бензилиденовой группы гидролизом и тритилирование дало метил-6-О-тримил-3-О-метил-2-О-бензоил- α -D-маннопиранозид (VII), сульфатирование которого с последующим удалением защищающих групп привело к 4-сульфату метил-3-О-метил- α -D-маннопиранозида (VIII). Бензоилирование (VII) с последующим удалением тритильной группы, сульфатированием и омылением бензоильных остатков дало 6-сульфат метил-3-О-метил- α -D-маннопиранозида (XI).

Структуры полученных сульфатов подтверждались путем метилирования их по методу Куна [14], не затрагивающего сульфатных групп, метанолиза, приводящего к десульфатированию, и последующего сравнения полученных три-О-метилпроизводных метил- α -D-маннопиранозида с известными образцами методом ГЖХ.

В ИК-спектре 2-сульфата метил-3-О-метил- α -D-маннопиранозида (V) имеется полоса поглощения при 850 см^{-1} , что совпадает со значением, обычно наблюдаемым для аксиальной сульфатной группы в кольце моносахарида [15]. Однако в случае 4-сульфата (VIII) в ИК-спектре наблюдается полоса поглощения при 862 см^{-1} вместо ожидаемой для экваториальной

ной сульфатной группы частоты 830 см^{-1} , а в случае 6-сульфата (XI) — полоса поглощения при 805 см^{-1} вместо характерной для первичной сульфатной группы частоты 820 см^{-1} . Этот факт лишней раз показывает, что нельзя использовать ИК-спектроскопию как метод определения положения сульфата в молекуле полисахарида без изучения ИК-спектров соответствующих модельных соединений (ср. [16, 17]).

Данные ^{13}C -ЯМР спектров приведены в таблице. Отнесение сигналов для метил- α -*D*-маннопиранозиды сделано на основании данных работы [4]. Последовательное введение заместителей в молекулу моносахарида дает возможность определить влияние каждого из них на вид спектра. В спектре (IV) сигнал $C_{(3)}$ показывает хорошо известный для *O*-метилпроизводных сдвиг в слабое поле на 9,3 м.д., а сигнал $C_{(2)}$ сдвинут на 4,8 м.д. в сильное поле, что соответствует установленной ранее величине сдвига резонанса для β -атома углерода с аксиальной гидроксильной группой [18]. Сдвиг резонанса $C_{(4)}$ на 1,2 м.д. в сильное поле обусловлен β -эффектом для соседнего экваториального гидроксила [19].

Появление в моносахариде сульфатной группы приводит к сдвигу сигнала α -атома углерода на 7—8 м.д. в слабое поле, а сигналов β -атомов

Химические сдвиги- ^{13}C -ЯМР метил- α -*D*-маннопиранозиды, метил-3-*O*-метил- α -*D*-маннопиранозиды (IV) и его сульфатированных производных (V), (VIII) и (XI)
(В миллионных долях относительно $\text{Si}(\text{CH}_3)_4$)

Соединение	$C_{(1)}$	$C_{(2)}$	$C_{(3)}$	$C_{(4)}$	$C_{(5)}$	$C_{(6)}$	CH_3 у $C_{(1)}$	CH_3 у $C_{(3)}$
Метил- α - <i>D</i> -маннопиранозид	101,8	70,9	71,7	67,8	73,4	61,9	55,5	
(IV)	101,7	66,1	81,0	66,6	73,4	61,8	55,6	57,2
(V)	99,5	73,1	79,3	66,4	73,4	61,7	55,9	57,6
(VIII)	101,3	68,2	79,7	74,8	72,1	61,6	55,8	58,3
(XI)	101,7	66,3	80,8	66,7	71,4	68,1	55,8	57,3

углерода на 1,3—2,2 м.д., но уже в сильное поле. Аксиально расположенная сульфатная группа у $C_{(2)}$ вызывает больший сдвиг сигнала β -атома, причем особенно велико значение сдвига для гликозидного атома $C_{(1)}$. Это можно, видимо, объяснить образованием вокруг гликозидного центра довольно плотного окружения из электроотрицательных групп (гликозидный метоксил, сульфат при $C_{(2)}$ и кислород моносахаридного цикла). Сдвиги резонансов β -атомов по отношению к экваториальному сульфату при $C_{(4)}$ и сульфату при первичном атоме $C_{(6)}$ находятся в соответствии с данными работы [8] для экваториального сульфата при $C_{(3)}$ и первичного сульфата при $C_{(6)}$ в *D*-глюкозе. Влияние сульфатной группы на сигналы более удаленных атомов углерода незначительно и не может рассматриваться как закономерное, однако нужно отметить сдвиг резонанса $C_{(2)}$ в спектре 4-сульфата (VIII) на 2 м.д. в слабое поле.

За исключением 2-сульфата, находящегося в β -положении к гликозидному центру, введение сульфатной группы в метилгликозид не вызывает сколько-нибудь заметного изменения в сигнале $C_{(1)}$. Резонанс углерода метильной группы агликона при введении в моносахарид заместителей практически не изменяется, однако появление в β -положении к *O*-метилированному $C_{(3)}$ сульфатной группы вызывает сдвиг сигнала метильного углерода в слабое поле, причем аксиальный сульфат при $C_{(2)}$ приводит к сдвигу на 0,4 м.д., а экваториальный при $C_{(4)}$ — на 1,1 м.д.

Полученные закономерности могут быть полезными при изучении сульфатов моно- и полисахаридов методом ^{13}C -ЯМР, в частности, при определении положения сульфатных групп, что сделать химическими или другими инструментальными методами не всегда удается.

Экспериментальная часть

ТСХ проводили на пластинках с закрепленным слоем силикагеля КСК в смеси хлороформ — ацетон (9:1). ИК-спектры снимали на приборе «UR-10» (ГДР) в таблетках КВг. ГЖХ выполняли на хроматографе «Руче-104» (Англия) с пламенно-ионизационным детектором; колошка $150 \times 0,6$ см с 3% ECNSS на газхроме Q при 130° . Оптическую активность измеряли на автоматическом поляриметре «Perkin-Elmer 141» (США). Температуру плавления определяли на блоке Кюфлера (ГДР). Спектры ^{13}C -ЯМР получали на спектрометре «PS-100» с FT-приставкой «JEOL» (Япония). Химические сдвиги измеряли относительно диоксиана и пересчитывали относительно тетраметилсилана. Образцы снимали в растворе D_2O при 50° .

Метил-4,6-О-бензилиден-3-О-метил-2-О-тозил- α -D-маннопиранозид (II). 3,3 г метил-4,6-О-бензилиден-2-О-тозил- α -D-маннопиранозид (I) метилировали $\text{CH}_3\text{I} - \text{Ag}_2\text{O}$ по методу Пурди [11], контролируя реакцию с помощью ТСХ. После исчезновения исходного вещества отфильтровывали окись серебра, промывали осадок несколько раз ацетоном, объединенные фильтраты упаривали, получали 3,3 г (95%) вещества (II). R_f 0,8. Т. пл. $147 - 148^\circ$ (из метанола). $[\alpha]_{\text{D}}^{20} - 6,0^\circ$ (с 2,0; CHCl_3). Найдено, %: С 58,28; Н 5,76. $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_8\text{S}$. Вычислено, %: С 58,70; Н 5,78.

Метил-4,6-О-бензилиден-3-О-метил- α -D-маннопиранозид (III). 3,25 г (II) кипятили 3 ч в растворе 25 г Na в 50 мл абсолютного метанола, затем добавляли 50 мл воды, упаривали метанол, остаток несколько раз экстрагировали CHCl_3 и объединенные экстракты упаривали. Из полученного сиропообразного остатка хроматографией на колонке 4×25 см с SiO_2 при промывании CHCl_3 выделяли 2,0 г (93%) вещества (III). Сироп, R_f 0,6. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} + 72,0^\circ$ (с 1,2; CHCl_3). Данные работы [20]: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} + 76^\circ$ (CHCl_3).

Метил-3-О-метил- α -D-маннопиранозид (IV). 400 мг (III) кипятили 2 ч в 20 мл смеси ацетон — вода — 1 н. HCl (18:8:1), нейтрализовали раствор PbCO_3 , фильтровали, экстрагировали выделившийся бензальдегид гептаном и упаривали. Получали 200 мг (73%) вещества (IV), гомогенно по данным ТСХ. Сироп. R_f 0,2. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} + 53,6^\circ$ (с 1,2; этанол).

На-соль 2-сульфата метил-3-О-метил- α -D-маннопиранозид (V). 400 мг (III) растворяли в 30 мл сухого пиридина, охлаждали до -30° и прибавляли 1,5 мл хлорсульфонової кислоты, после чего температуру медленно доводили до комнатной. Через 15 ч к смеси добавляли 20 мл воды и быстро нейтрализовали NaHCO_3 . Затем смесь упаривали, сухой остаток экстрагировали метанолом, экстракт упаривали, остаток растворяли в 20 мл воды и пропускали через колонку с катионитом КУ-2 (в H^+ -форме). Полученный кислый раствор нагревали 30 мин при $60^1 - 65^\circ$, охлаждали, экстрагировали 2×20 мл гептана для удаления бензальдегида и пропускали через колонку с КУ-2 (в Na^+ -форме). После упаривания и сушки в вакууме получали 250 мг (53%) вещества (V), не содержащего, по данным ТСХ, исходного (III). Аморфный порошок. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} - 6,5^\circ$ (с 0,8; метанол), ИК-спектр: $1260, 850 \text{ см}^{-1}$ (сульфат).

Метил-3-О-метил-2-О-бензоил- α -D-маннопиранозид (VI). 1,10 г (III) обрабатывали 2 мл хлористого бензоила в 3 мл пиридина 12 ч при комнатной температуре. Затем удаляли пиридин упариванием с толуолом, растворяли остаток в CHCl_3 , промывали раствор водой, 2 н. HCl (при этом удалялась бензилиденовая группа), водой, упаривали CHCl_3 и хроматографией на колонке с SiO_2 $1,5 \times 15$ см при промывании CHCl_3 получали 0,84 г (73%) гомогенного, по данным ТСХ, вещества (VI). R_f 0,4. Т. пл. $107 - 108$ (из CHCl_3). $[\alpha]_{\text{D}}^{20} - 10,0^\circ$ (с 1,6, CHCl_3). Найдено, %: С 57,31; Н 6,55. $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_7$. Вычислено, %: С 57,60; Н 6,44.

Метил-6-О-третил-3-О-метил-2-О-бензоил- α -D-маннопиранозид (VII). 0,80 г (VI) обрабатывали 1,5 г трифенилхлорметана в 5 мл сухого пиридина при комнатной температуре. Через 12 ч упаривали пиридин с толуолом, из остатка хроматографией на колонке $1,5 \times 15$ см с Al_2O_3 при

промывании бензолом получали 1,33 г (90%) вещества (VII). R_f 0,7. Т. пл. 69—74° (из CHCl_3). $[\alpha]_D^{20} -9,2^\circ$ (с 1,2; CHCl_3).

Na-соль 4-сульфата метил-3-О-метил- α -D-маннопиранозида (VIII). 600 мг (VII) сульфатировали хлорсульфоновой кислотой в пиридине. Полученный сульфат детритилировали нагреванием в 1% CH_3COOH при 100° в течение 10 мин. Окончание реакции определяли с помощью ТСХ по отсутствию желтой окраски на старте при опрыскивании H_2SO_4 . Смесь упаривали, остаток сушили в вакууме, затем растворяли в 30 мл 0,1 н. CH_3ONa в метаноле и выдерживали 30 мин при комнатной температуре для удаления бензоатной группы. Затем раствор пропускали последовательно через колонки с КУ-2 (в H^+ -форме) и КУ-2 (в Na^+ -форме), упаривали, растворяли остаток в воде, экстрагировали бензолом для удаления трифенилкарбинола, упаривали водный слой, растворяли остаток в метаноле и осаждали Na-соль (VIII) добавлением эфира. Получали 150 мг (45%) вещества (VIII). Аморфный порошок. $[\alpha]_D^{20} +53,0^\circ$ (с 0,2; метанол), ИК-спектр: 1250, 862 cm^{-1} (сульфат).

Метил-6-О-тримил-2,4-ди-О-бензоил-3-О-метил- α -D-маннопиранозид (IX). 710 мг (VII) бензоилировали 2 мл хлористого бензоила в 3 мл пиридина. Через 12 ч при комнатной температуре упаривали пиридин с толуолом, остаток растворяли в CHCl_3 , трижды промывали водой, упаривали, получали 850 мг (95%) вещества (IX). R_f 0,8. Сироп. $[\alpha]_D^{20} -42,1^\circ$ (с 1,5; CHCl_3).

Метил-3-О-метил-2,4-ди-О-бензоил- α -D-маннопиранозид (X). 840 мг (IX) нагревали 2 ч при 100° в 20 мл 80% CH_3COOH , затем раствор упаривали и остаток хроматографировали на колонке 1,5 × 15 см с SiO_2 при промывании смесью бензол — CHCl_3 (1 : 1). Получали 550 мг (95%) вещества (X). R_f 0,7. Сироп. $[\alpha]_D^{20} -73,5^\circ$ (с 1,5; CHCl_3).

Na-соль 6-сульфата метил-3-О-метил- α -D-маннопиранозида (XI). 540 мг (X) сульфатировали хлорсульфоновой кислотой в пиридине и полученный сульфат дебензоилировали метилатом натрия в метаноле как описано выше. Метанольный раствор пропускали последовательно через колонку с КУ-2 (в H^+ -форме) и КУ-2 (в Na^+ -форме), после чего Na-соль сульфата (XI) осаждали добавлением эфира. Получали 170 мг (47%) вещества (XI). Аморфный порошок. $[\alpha]_D^{20} +36,0^\circ$ (с 0,25; метанол), ИК-спектр: 1270, 805 cm^{-1} (сульфат).

Установление положения сульфатных групп. Вещества (V), (VIII) и (XI) (по 10 мг каждого) метилировали $\text{CH}_3\text{I}-\text{Ag}_2\text{O}$ в диметилформамиде [14]. Полученные полностью метилированные производные десульфатировали кипячением в 3% HCl в метаноле в течение 12 ч. Образующиеся частично метилированные метилгликозиды сравнением с заводскими образцами методом ГЖХ идентифицировали соответственно как метил-3,4,6-три-О-метил-, метил-2,3,6-три-О-метил- и метил-2,3,4-три-О-метил- α -D-маннопиранозид.

ЛИТЕРАТУРА

1. Breitmaier E., Jung G., Voelter W. (1972) *Chimia*, **26**, 136—139.
2. Dorman D. E., Angyal S. J., Roberts D. J. (1970) *J. Amer. Chem. Soc.*, **92**, 1351—1354.
3. Usui T., Yamaoka N., Matsuda K., Tuzimura K., Sugiyama H., Seto S. (1973) *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*, **1**, 2425—2432.
4. Gorin P. A. J. (1975) *Carbohydr. Res.*, **39**, 3—10.
5. Perlin A. S., Ng Ying Kin N. M. K., Bhattacharjee S. S., Johnson S. S. (1972) *Can. J. Chem.*, **50**, 2437—2441.
6. Lasker S. E., Chiu M. L. (1973) *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **222**, 971—977.
7. Honda S., Iuki H., Takiura T. (1974) *J. Biochem.*, **76**, 209—211.
8. Honda S., Iuki H., Takiura T. (1973) *Carbohydr. Res.*, **28**, 150—153.
9. Усов А. И., Адамянц К. С., Яроцкий С. В., Аношина А. А. (1975) *Ж. общ. химии*, **45**, 916—921.
10. Seymour F. R. (1974) *Carbohydr. Res.*, **34**, 65—70.

11. Purdie T., Irvine J. C. (1903) *J. Chem. Soc.*, 83, 1021—1037.
12. Percival E. G. V. (1945) *J. Chem. Soc.*, 119—123.
13. Guiseley K. B., Ruoff P. M. (1962) *J. Org. Chem.*, 27, 1479—1482.
14. Kuhn R., Trischmann H., Löw I. (1955) *Angew. Chem.*, 67, 32.
15. Lloyd A. G., Dodgson K. S. (1961) *Biochim. et Biophys. acta*, 46, 116—120.
16. Turvey J. R., Bowker D. M., Harris M. J. (1967) *Chem. and Ind.*, 2081—2082.
17. Anderson N. S., Dolan T. C. S., Penman A., Rees D. A., Mueller G. P., Stancioff D. J., Stanley N. F. (1968) *J. Chem. Soc., C*, 602—606.
18. Voelter W., Breitmaier E., Rathbone E. B., Stephen A. M. (1973) *Tetrahedron*, 29, 3845—3848.
19. Dorman D. E., Roberts J. D. (1970) *J. Amer. Chem. Soc.*, 92, 1355—1361.
20. Miljković M., Gligorijević M., Glišin D. (1974) *J. Org. Chem.*, 39, 3223—3226.

Поступила в редакцию
2.VI.1975

SYNTHESIS AND CARBON-13 NMR SPECTRA OF METHYL 3-O-METHYL- α -D-MANNOPYRANOSIDE SULPHATES

USOV A. I., YAROTSKII S. V., VASYANINA L. K.

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

V. I. Lenin State Pedagogical Institute, Moscow

The synthesis of methyl 3-O-methyl- α -D-mannopyranoside and its three isomeric sulphates has been carried out. ^{13}C -NMR was shown to be useful for the determination of sulphate group position in the monosaccharide. Sulphate group influence on the carbon atom chemical shifts has been studied.
