



УДК 547.458(33+41).057:579.842.15

СИНТЕЗ ОЛИГОСАХАРИДНЫХ ФРАГМЕНТОВ О-СПЕЦИФИЧЕСКИХ ПОЛИСАХАРИДОВ *SHIGELLA FLEXNERI*

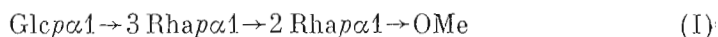
II. * СИНТЕЗ ТРИСАХАРИДА $\text{Glc}\alpha 1 \rightarrow 3\text{Rha}\alpha 1 \rightarrow 2\text{Rha}\alpha 1 \rightarrow \text{OMe}$
И ТЕТРАСАХАРИДА $\text{GlcNAc}\beta 1 \rightarrow 2(\text{Glc}\alpha 1 \rightarrow 3)\text{Rha}\alpha 1 \rightarrow 2\text{Rha}\alpha 1 \rightarrow \text{OMe}$

*Бакиновский Л. В., Голмян А. Р., Байрамова Н. Э.,
Кочетков Н. К.*

*Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского
Академии наук СССР, Москва*

Осуществлен ступенчатый синтез метилгликозидов линейного трисахарида и разветвленного тетрасахарида – фрагментов О-антигенных полисахаридов бактерии *Shigella flexneri* серотипов 2b, 3a, 5b, X.

В продолжение наших работ по синтезу олигосахаридных фрагментов полисахаридов бактерии *Shigella flexneri* мы осуществили синтез линейного трисахарида (I) и разветвленного тетрасахарида (II):



Стратегия их синтеза сходна со стратегией, использованной нами ранее [1] для получения двух разветвленных трисахаридов, т. е. в качестве исходного соединения был выбран известный [2] метил-4-О-бензил- α -L-рамнопиранозид (III), для временной защиты гидроксильных групп при С-2 и С-3 в остатках рамноз использовали ацилирование и синтез олигосахаридов осуществляли ступенчатым наращиванием углеводной цепи.

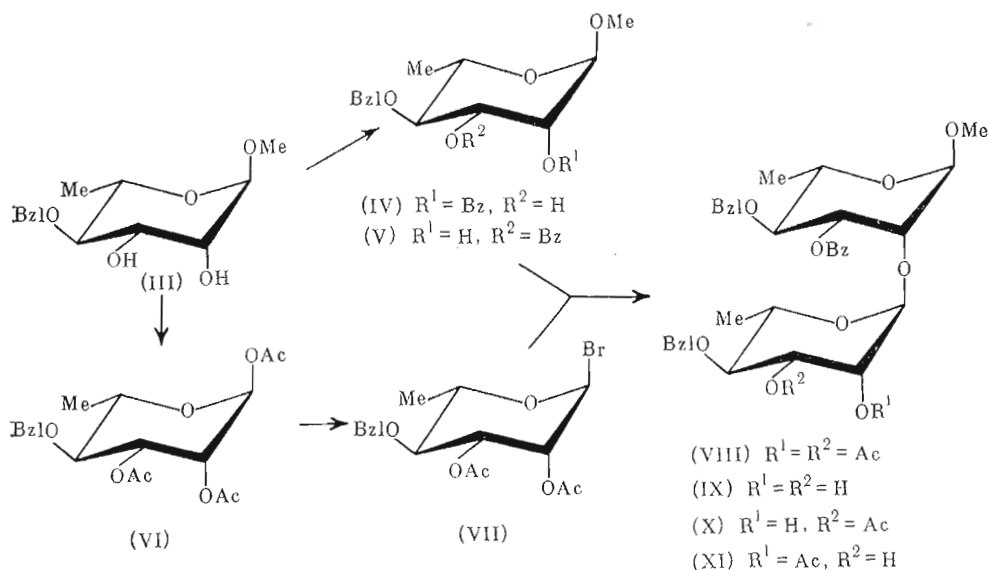
Схема синтеза целевых олигосахаридов предполагала получение производного дисахарида рамнозил-(1 \rightarrow 2)-рамнозы и превращение его в агликон со свободной гидроксильной группой при С-3' для последующего α -гликозилирования. Полученное производное трисахарида использовалось для выхода как к трисахариду (I), так и к тетрасахариду (II). В последнем случае это достигалось избирательным освобождением гидроксильной группы при С-2' с последующим введением остатка глюкозамина.

В качестве гликозилируемого компонента для синтеза дисахарида (VII) мы избрали метил-4-О-бензил-3-О-бензоил- α -L-рамнопиранозид (V). Это соединение ранее [1] было выделено в качестве минорного продукта (9%) при монобензоилировании диола (III) действием 1,5 моль-экв. хлористого бензоила в присутствии пиридина. Основными продуктами были изомерный 2-О-бензоат (IV) (40%) и метил-4-О-бензил-2,3-ди-О-бензоил- α -L-рамнопиранозид (49%). С целью повышения выхода 3-О-бензоильного производного (V) монобензоилирование диола (III) хлористым бензоилом мы проводили по методу, предложенному Огавой с сотр. [3], состоящему в активации экваториальной гидроксильной группы путем станцилирования под действием $(\text{Bu}_3\text{Sn})_2\text{O}$. Следовало ожидать, что в случае производного (III) станцилирование и последующее бензоилирование приведут

* Сообщение I см. [1]; остатки Glc и GlcNAc – D-, а Rha – L-конфигурации.

к преимущественному образованию 3-О-бензоата (V). Действительно, выход целевого 3-О-бензоата (V) составил 64%, при этом изомерный 2-О-бензоат (IV) образовывался с выходом 21% (схема 1).

Схема 1



Для рамнозилрования монобензоата (V) был использован бромид (VII). Мы модифицировали описанную ранее методику получения этого бромида [4]. Были найдены условия непосредственного перевода метилгликозида (III) в α -триацетат (VI) путем ацетоллиза (1% H_2SO_4 в уксусном ангидриде, 20° С, 3 мин; увеличение времени ацетоллиза сопровождалось образованием тетра-О-ацетил-*L*-рамнопиранозы (ТСХ, ПМР)). Величина удельного вращения полученного триацетата (VI) (-46°) и спектр ПМР были близки к приведенным в работе [5] ($[\alpha]_D -52^\circ$, где триацетат (VI) также получали ацетоллизом метилрамнозида (III), но условия проведения этой реакции не были описаны).

Превращение триацетата (VI) в бромид (VII) проводили действием бромистого водорода в хлористом метиле, как описано в работе [4]. Гликозилрование в условиях Гельфериха привело с выходом 91% к производному дисахарида (VIII). В слабopольной области (δ 5,40–5,60 м.д.) спектра ^1H -ЯМР этого соединения наблюдались три сигнала, отвечающие Н-2', Н-3' и Н-3, т. е. бензойная группа в условиях дисахаридного синтеза миграции не подверглась и, следовательно, гликозилрование было региоспецифичным. Величины химических сдвигов обоих С-5-атомов углерода в спектре ^{13}C -ЯМР согласуются с α -конфигурацией обоих аномерных атомов углерода (ср. [5] и [6]).

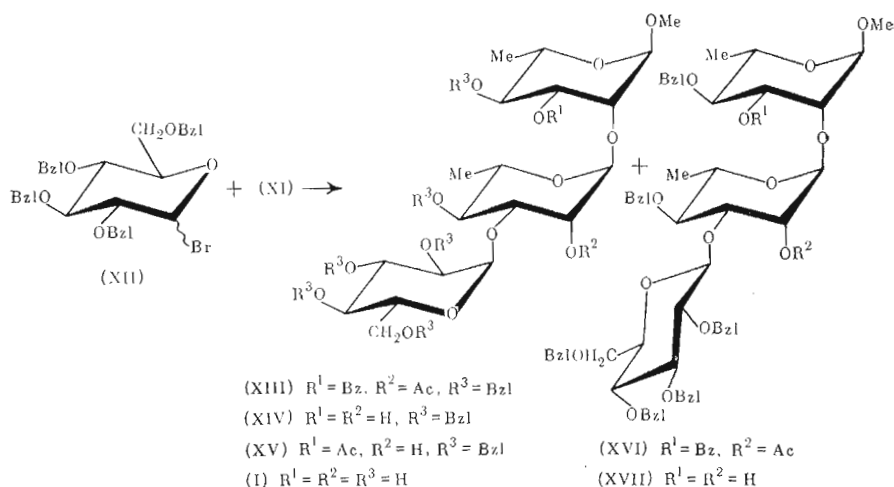
Для получения трисахарида (XIII) необходимо было из дисахаридного производного (VIII) получить агликон (XI) со свободной гидроксильной группой при С-3 невосстанавливающего остатка рамнозы. Соединение (VIII) переводили в диол (IX) путем кислого метанолиза, не затрагивающего О-бензойные группы [7], и далее моноацетилировали действием 1,5 моль-экв. хлористого ацетила в присутствии пиридина. Как и ожидали, учитывая результаты моноацетилирования диола (III) [1], основным продуктом (57%) явился моноацетат с защищенной аксиальной гидроксильной группой, т. е. 2'-О-ацетат (XI). Это было установлено на основании данных спектра ^1H -ЯМР, в котором слабopольные сигналы с δ 5,38 и 5,60 м.д. отвечали Н-2' и Н-3 (J 1,5 и 3,5; 3 и 9 Гц соответственно). Спектр минорного продукта (5%) соответствовал структуре (X), поскольку константы спин-спинового взаимодействия обоих слабopольных сигналов с δ 5,32 м.д. (J 3 и 9 Гц) и δ 5,50 м.д. (J 3,5 и 9 Гц) указывали на нали-

чие ацильных групп при О-3' и О-3. Дополнительное подтверждение строения соединений (X) и (XI) было получено из спектров ^{13}C -ЯМР: для моноацетата (XI) вследствие β -эффекта ацетилирования сигнал С-1' (δ 99,2 м.д.) оказался смещенным в более сильное поле по сравнению с сигналом для (X) (δ 101,5 м.д.).

Попытка избирательного удаления одной из О-ацетильных групп в диацетате (VIII) в условиях кислого метанолиза [7] к успеху не привела; в реакционной смеси преобладали либо исходный продукт (в начальный период реакции), либо диол (IX) (ТСХ).

Гликозилирование дисахаридного производного (XI) 2,3,4,6-тетра-О-бензил-*D*-гликопиранозилбромидом (XII) в присутствии $\text{Hg}(\text{CN})_2$ в хлористом метиле не привело, согласно данным спектра ^{13}C -ЯМР, к смеси полностью защищенных трисахаридов (XIII) и (XVI) (схема 2): наряду с сигналом с δ 92,75 м.д., характерным для С-1 остатка глюкозы, присоединенной α -(1 \rightarrow 3)-связью к остатку рамнозы [1, 8], в области резонанса аномерных атомов углерода присутствовал сигнал с δ 103,15 м.д., принадлежащий С-1 остатка β -глюкозы.

Схема 2



Из-за одинаковой хроматографической подвижности их препаративное разделение не представилось возможным, лишь небольшое количество трисахарид (XIII) было выделено для спектроскопического исследования.

В качестве исходного соединения для синтеза разветвленного тетрасахарида (XIX) можно было бы использовать продукт дезацетилирования трисахарид (XIII). Однако и после дезацетилирования смеси (XIII) и (XVI) по методу [7] препаративно разделить α - и β -трисахариды (имеется в виду конфигурация С-1 остатка глюкозы) не удалось. Поэтому мы провели щелочное дезацетилирование и выделили α -(XIV) и β -(XVII) аномеры с выходами 45–54 и 17–19% соответственно. Интересно, что α -гликозилирование в присутствии $\text{AgOSO}_2\text{CF}_3$ в хлористом метиле с использованием 2,4,6-коллидина при -30 – -50°C существенно не изменяет выход α -связанного трисахарид (XIV) (48%), между тем как количество β -связанного трисахарид (XVII) несколько повышается (23–27%).

Гидрогенолиз соединения (XIV) над Pd/C привел с выходом 85% к целевому незащищенному линейному трисахариду (I). Сигналы в спектре ^{13}C -ЯМР трисахарид (I) были отнесены с использованием модельного соединения, метил-3-О-(α -*D*-гликопиранозил) - α - *L* - рамнопиранозид (XXII), полученного гидрогенолизом бензилированного дисахарид (XXI) [1]. Сигналы в спектре ^{13}C -ЯМР дисахарид (XXII) (см. таблицу) были отнесены с помощью двойного гетероядерного резонанса. В спектре ^{13}C -ЯМР трисахарид (I) (таблица) присутствовали сигналы, характерные для С-5 α -рамнопиранозильных остатков (δ 69,7 и 70,3 м.д.) и С-6

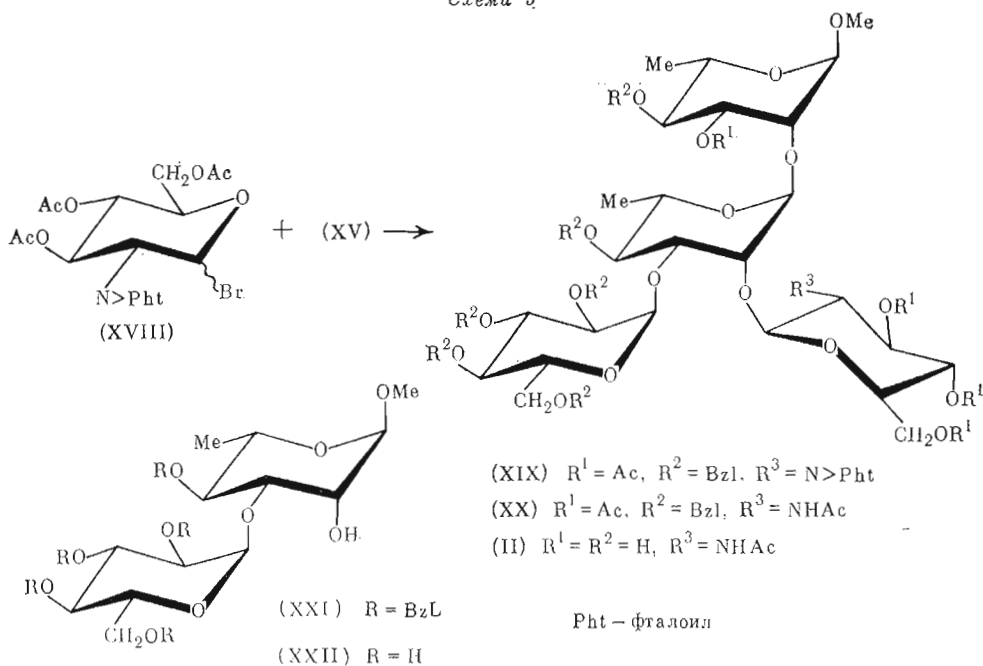
рамнопираноз (δ 17,9 м.д.) и глюкопиранозы (δ 61,8 м.д.). В области резонанса аномерных атомов углерода имелись три сигнала (δ 96,6; 100,8 и 102,95 м.д.), величины констант $^1J_{\text{CH}}$ которых (169,5; 170,3 и 171,3 Гц) указывали на α -конфигурацию всех трех гликозидных центров. Наиболее слабopольные среди остальных сигналов (δ 79,7 и 76,7 м.д.) принадлежали гликозилированным атомам углерода C-2 и C-3'.

С целью получения гликозилируемого компонента для дальнейшего наращивания цепи бензилированное трисахаридное производное (XIV) было подвергнуто моноацетилированию действием 1,5 моль-экв. хлористого ацетила в присутствии пиридина при 0° С. Основным продуктом реакции, строение которого было установлено на основании спектральных данных, оказалось 3-О-ацетильное производное (XV): слабopольный сигнал в спектре ^1H -ЯМР с δ 5,26 м.д. отвечал H-3 (J 3,2 и 9,5 Гц), в спектре ^{13}C -ЯМР из-за β -эффекта ацетилирования сигнал C-4 сместился в более сильное поле (δ C-4 82,3 для (XIV) и 79,0 м.д. для (XV)).

Введение остатка глюкозамина проводили взаимодействием трисахаридного производного (XV) с бромидом (XVIII) в ацетонитриле в присутствии $\text{Hg}(\text{CN})_2$ и HgBr_2 с предварительным высушиванием реагентов при $4 \cdot 10^{-3}$ мм рт. ст. Попытки гликозилирования без такого высушивания (CH_3CN , $\text{Hg}(\text{CN})_2$ или CH_2Cl_2 , $\text{AgOSO}_2\text{CF}_3$, 2,4,6-коллидин, $-30 \div -50^\circ \text{C}$) к успеху не привели.

Полученный с выходом 60% защищенный тетрасахарид (XIX) (схема 3) подвергали фталилоилированию и дезацетилированию действием гидразингидрата и последующему ацетилированию уксусным ангидридом в пиридине, что привело к ацетату (XX) с выходом 86%.

Схема 3



В спектре ^{13}C -ЯМР фталимидного и ацетамидного производных (XIX) и (XX) присутствовали сигналы, характерные для C-2 остатков β -D-глюкозамина (δ 55,3 и 53,9 м.д.). Гидрогенолиз и дез-О-ацетилирование соединения (XX) дали целевой разветвленный тетрасахарид (II) (выход 83%). Строение последнего было установлено на основании данных ЯМР-спектроскопии с использованием двойного гетероядерного резонанса (данные спектра ^{13}C -ЯМР см. в таблице). Константы $^1J_{\text{CH}}$ для сигналов с δ 102,6; 101,9; 100,35 и 95,5 м.д. составляли 161,8; 172,0; 170,2 и 170,2 Гц соответ-

Данные спектров ^{13}C -ЯМР олигосахаридов (I), (II) и (XXII) (6, м. д.)

Соединение	Остаток	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	OMe
$\text{Glc}\alpha 1 \rightarrow 3\text{Rha}\alpha 1 \rightarrow \text{OMe}$ (XXII)	-Rha	101,35	67,75	76,9	71,4	69,5	47,8	55,8
	Glc-	96,65	72,4	74,0	70,5	72,8	61,5	
$\text{Glc}\alpha 1 \rightarrow 3\text{Rha}\alpha 1 \rightarrow 2\text{Rha}\alpha 1 \rightarrow \text{OMe}$ (I)	-Rha	100,8	79,7	71,3	73,5	69,7	47,9	56,1
	-Rha-	102,95	68,9	76,7	71,55	70,3	17,9	
	Glc-	96,6	72,6	74,2	70,85	73,0	61,8	
$\text{GlcNAc}\beta 1 \rightarrow 2\text{Rha}\alpha 1 \rightarrow 2\text{Rha}\alpha 1 \rightarrow \text{OMe}$ (II)	-Rha	100,35	79,4	70,8	73,05	69,3	47,5 *	55,7
	-Rha-	100,9	74,85	74,85	71,6	70,25	17,6 *	
	GlcNAc-	102,6	56,45	75,1	70,45	76,7	61,3 *	
	Glc-	95,5	72,15	73,9	70,8	72,3	61,6 *	

* Отнесение сигналов может быть изменено на обратное.

ственно, что доказывает β -конфигурацию глюкозаминидной связи и α -конфигурацию всех остальных. Кроме того, при анализе методом метилирования были идентифицированы по масс-спектрам сравнением с литературными данными [9, 10] ацетаты 3,4-ди-О-метилрамнита, 2,3,4,6-тетра-О-метилглюцита, 4-О-метилрамнита, 2-дезоксид-3,4,6-три-О-метил-2-(N-метилацетида) глюцита.

Авторы благодарны А. С. Шашкову за съемку спектров ЯМР и помощь в их интерпретации.

Экспериментальная часть

Оптическое вращение измеряли на поляриметре Perkin — Elmer 141 в хлороформе при $20 \pm 2^\circ \text{C}$. Спектры ЯМР снимали на приборах BS-467 (60 МГц) (ЧССР) и Bruker-WM-250 (ФРГ). Приведены значения сигналов в шкале δ , в миллионных долях. Растворители для съемки спектров ЯМР — дейтерохлороформ (внутренний стандарт — тетраметилсилан) и $^2\text{H}_2\text{O}$. ГЖХ проводили на приборе Pye-Unicam-105 (Англия) (колонка стеклянная, 1 м, 5% SE-30 на хроматоне N-AW-DMCS, 190°C , газ-носитель — азот, детектор пламенно-ионизационный), ГЖХ-масс-спектрометрию — на приборе Varian MAT 111 GNOM (ФРГ) (колонка стальная, 1 м, 5% SE-30 на хроматоне N-AW-DMCS, $160\text{--}230^\circ \text{C}$, газ-носитель — гелий). ТСХ осуществляли на пластинках с силикагелем L5/40 мкм (ЧССР) в системах растворителей бензол — эфир, 1:1 (А), бензол — эфир, 7:3 (Б), хлороформ — метанол, 1:1 (В), хлороформ — метанол, 1:3 (Г); колоночную хроматографию — на силикагеле L 40/100 мкм (ЧССР) в системах бензол — эфир и хлороформ — метанол для защищенных и незащищенных производных соответственно. Бензильные группы удаляли гидрогенолизом над 10% Pd/C в метаноле при $35\text{--}37^\circ \text{C}$.

Хлористый метилен промывали конц. H_2SO_4 , затем водой, насыщенным раствором NaHCO_3 , сушили CaCl_2 , перегоняли над CaH_2 . Ацетонитрил перегоняли над P_2O_5 и CaH_2 , пиридин сушили NaOH , перегоняли над P_2O_5 . $\text{Hg}(\text{CN})_2$ — фирмы Merck (ФРГ), HgBr_2 готовили по методике [11] и сушили при 100°C в вакууме над P_2O_5 .

Монобензоилирование метил-4-О-бензил- α -L-рамнопиранозид. К раствору 2,7 г (10 ммоль) диола (III) ($[\alpha]_D -69,7^\circ$ (с 1,7), т. пл. 105–108° С, лит. данные [2]: $[\alpha]_D -68,3^\circ$, т. пл. 107–109° С) в 85 мл толуола добавляли 5 мл (10 ммоль) $(\text{Bu}_3\text{Sn})_2\text{O}$ и кипятили 5 ч с азеотропной отгонкой воды (насадка Дина–Старка). К охлажденному раствору добавляли раствор 1,7 мл (15 ммоль) хлористого бензоила в 10 мл абс. толуола при 0° С. Через 14 ч (20° С) реакционную смесь упаривали, остаток хроматографировали. Выделили 0,79 г (21%) соединения (IV), сироп, R_f 0,42 (А), $[\alpha]_D +19^\circ$ (с 1,1) и 2,38 г (64%) соединения (V), сироп, R_f 0,3 (А), $[\alpha]_D +5,7^\circ$ (с 1,0) (лит. данные [1]: (IV), $[\alpha]_D +20^\circ$, (V), $[\alpha]_D +6,2^\circ$).

1,2,3-Три-О-ацетил-4-О-бензил- α -L-рамнопиранозид (VI). Раствор 0,45 мл H_2SO_4 в 45 мл уксусного ангидрида добавляли при 20° С к 7,9 г (30 ммоль) диола (III). Через 3 мин реакционную смесь выливали в лед и экстрагировали хлороформом (300 мл). Экстракт промывали водой (200 мл), насыщенным раствором NaHCO_3 (2×150 мл) и водой (200 мл). Органический слой отделяли, упаривали и остаток хроматографировали. Выход 8,0 г (75%), сироп, $[\alpha]_D -46^\circ$ (с 1,0), R_f 0,64 (А); лит. [5]: $[\alpha]_D -52^\circ$. ^1H -ЯМР (60 МГц): 1,34 (д, 3H, J 6, Гц, H-6), 1,94; 2,08; 2,13 (3с, 9H, 2CH₃CO), 3,30–4,06 (м, 2H, H-4, H-5), 4,68 (с, 2H, CH₂Ph), 5,00–5,42 (м, 2H, H-2, H-3), 5,88 (д, 1H, J 1,5 Гц, H-1), 7,30 (с, 5H, C₆H₅).

Метил-2-О-(2,3-ди-О-ацетил-4-О-бензил- α -L-рамнопиранозид)-4-О-бензил-3-О-бензоил- α -L-рамнопиранозид (VIII). К раствору 4,8 г (13 ммоль) монобензоата (V) в 30 мл ацетонитрила добавляли 7,5 г (30 ммоль) $\text{Hg}(\text{CN})_2$ и молекулярные сита 4 Å, перемешивали 15 мин в атмосфере аргона. К смеси по каплям добавляли раствор бромиды (VII) (полученного как описано в работе [4] из 11,3 г (30 ммоль) триацетата (VI)) в 30 мл ацетонитрила. Через 1 ч смесь разбавляли хлороформом (200 мл), промывали насыщенным раствором KI (2×150 мл), водой (150 мл). Органический слой отделяли, упаривали, остаток хроматографировали (бензол→бензол–эфир, 85:15). Выход дисахарида (VIII) 8,21 г (91%), сироп, R_f 0,64 (А) и 0,6 (Б), $[\alpha]_D -4,2^\circ$ (с 1,25). ^1H -ЯМР: 1,33; 1,35 (2д, 6H, J 6 Гц, H-6,6'), 2,01 (с, 6H, 2CH₃CO), 3,37 (с, 3H, OCH₃), 3,49 (т, 1H, J 9 Гц, H-4'), 3,70–3,85 (м, 2H, H-4,5), 3,99 (дк, 1H, H-5'), 4,10 (дд, 1H, J 1,5 и 3 Гц, H-2), 4,60–4,75 (м, 5H, H-1, 2CH₂Ph), 4,78 (д, 1H, J 2 Гц, H-1'), 5,41 (дд, 1H, J 3,5 и 9,5 Гц, H-3'), 5,47 (дд, 1H, J 1,7 и 3,5 Гц, H-2'), 5,55 (дд, 1H, J 3 и 9 Гц, H-3), 7,2–7,6 и 8,0–8,07 (2м, 15H, ароматические протоны). ^{13}C -ЯМР: 99,6; 99,4 (2С, С-1,1'), 77,0 (С-2), 70,2 (С-2'), 73,7 (С-3), 71,6 (С-3'), 78,8; 78,9 (2С, С-4,4'), 67,8; 68,4 (2С, С-5,5'), 17,9 (2С, С-6,6'), 20,85; 20,7 (2СН₃CO), 76,2; 75,9 (2СН₂Ph), 54,7 (ОСН₃), 165,5 (PhCO), 169,7 (2СН₃CO). Найдено, %: С 66,23; Н 6,79. С₃₈H₄₄O₁₂. Вычислено, %: С 65,88; Н 6,40.

Метил-4-О-бензил-2-О-(4-О-бензил- α -L-рамнопиранозид)-3-О-бензоил- α -L-рамнопиранозид (IX). К раствору 2,45 г (3,54 ммоль) диацетата (VIII) добавляли раствор хлористого водорода в метаноле, приготовленный из 2 мл хлористого ацетила и 25 мл метанола при 0° С, и оставляли на 16 ч при 20° С. В реакционную смесь порциями добавляли раствор NaHCO_3 , отделяли органический слой, разбавляли хлороформом (150 мл) и промывали раствором NaHCO_3 (100 мл) и водой (100 мл). Органический слой упаривали, остаток хроматографировали в системе бензол→бензол–эфир, 9:1. Выделили 0,3 г (13%) 3'-О-ацетильного производного (X), R_f 0,29 (Б), совпадающего по подвижности с образцом (X), полученных при моноацетилировании диола (IX) (см. ниже), и 1,54 г (71%) диола (IX). Сироп, R_f 0,21 (Б), $[\alpha]_D +7,8^\circ$ (с 1,2). ^1H -ЯМР: 1,31; 1,33 (2д, 6H, J 6 Гц, H-6,6'), 3,38 (с, 3H, OCH₃), 3,62 (т, 1H, J 9 Гц, H-4 или H-4'), 3,77–3,92 (м, 3H, H-4' или H-4, H-5,5'), 3,95–4,03 (уширенный с, 2H, H-2',3'), 4,14 (дд, 1H, J 2 и 3 Гц, H-2), 4,64 (дд, АВ-система) и 4,73 (с, 4H, 2СН₂Ph), 4,70 (д, J 2 Гц) и 4,84 (уширенный с, 2H, H-1,1'), 5,51 (дд, 1H, J 3 и 9 Гц, H-3), 7,12–7,60 и 8,0–8,08 (2м, 15H, ароматические протоны). ^{13}C -ЯМР: 99,7 (С-1), 101,3 (С-1'), 76,9 (С-2), 71,3; 71,35 (2С, С-2',3'), 73,8 (С-3), 79,3 (С-4), 81,6 (С-4'), 67,6 (С-5), 68,0 (С-5'), 17,9; 18,1 (2С,

С-6,6'), 54,85 (ОСН₃), 75,0 (2СН₂Ph), 165,6 (PhCO). Найдено, %: С 66,93; Н 6,65. С₃₄Н₄₀О₁₀. Вычислено, %: С 67,09; Н 6,62.

Моноацетилирование метил-4-О-бензил-2-О-(4-О-бензил-α-L-рамнопиранозил)-3-О-бензоил-α-L-рамнопиранозид. К раствору 3,6 г (5,9 ммоль) диола (IX) в 3 мл пиридина и 10 мл хлористого метилена добавляли по каплям при 0° С раствор 0,6 мл (9 ммоль) хлористого ацетил в 5 мл бензола. Через 15 мин смесь упаривали, остаток хроматографировали и выделяли 1,41 г (34%) диацетата (VIII) (R_f 0,6 (B)) и соединения (X), (XI).

Метил-2-О-(2-О-ацетил-4-О-бензил-α-L-рамнопиранозил)-4-О-бензил-3-О-бензоил-α-L-рамнопиранозид (XI): выход 2,2 г (57%), R_f 0,4 (B), т. пл. 112–114° С (эфир – гексан), [α]_D –18° (с 1,3). ¹H-ЯМР: 1,35; 1,37 (2д, 6H, J 6,5 Гц, H-6,6'), 2,07 (с, 3H, СН₃CO), 3,38 (с, 3H, ОСН₃), 3,65–3,91 (м, 4H, H-4,4', 5,5'), 4,13 (дд, 1H, J 1,5 и 3 Гц, H-2), 4,21 (дд, 1H, J 3,5 и 9,5 Гц, H-3'), 4,59–4,86 (м, 5H) и 4,89 (д, 1H, J 1,5 Гц) (H-1,1', 2СН₂Ph), 5,38 (дд, 1H, J 1,5 и 3,5 Гц, H-2'), 5,60 (дд, 1H, J 3 и 9,5 Гц, H-3), 7,15–7,60 и 8,03–8,1 (2м, 15H, ароматические протоны). ¹³C-ЯМР: 99,7 (C-1), 99,2 (C-1'), 76,15 (C-2), 72,5 (C-2'), 73,75 (C-3), 70,2 (C-3'), 79,2 (C-4), 81,7 (C-4'), 67,85; 68,3 (2C, C-5,5'), 18,0; 18,1 (2C, C-6,6'), 54,8 (ОСН₃); 75,2; 75,1 (2СН₂Ph), 165,5 (PhCO), 170,4 (СН₃CO), 20,85 (СН₃CO). Найдено, %: С 66,15; Н 6,54. С₃₆Н₄₂О₁₁. Вычислено, %: С 66,44; Н 6,51.

Метил-2-О-(3-О-ацетил-4-О-бензил-α-L-рамнопиранозил)-4-О-бензил-3-О-бензоил-α-L-рамнопиранозид (X): выход 0,18 г (5%), сироп, R_f 0,29 (B), [α]_D +13° (с 1,1). ¹H-ЯМР: 1,30; 1,35 (2д, 6H, J 6 Гц, H-6,6'), 2,07 (с, 3H, СН₃CO), 3,37 (с, 3H, ОСН₃), 3,55; 3,70 (2т, 2H, J 9 Гц, H-4,4'), 3,81; 3,98 (2дк, 2H, H-5,5'), 4,10; 4,16 (2дд, 2H, J 2 и 3,5 Гц, H-2,2'), 4,60–4,73 (м, 5H) и 4,80 (д, J 2 Гц, 1H) (H-1,1', 2СН₂Ph), 5,32 (дд, 1H, J 3 и 9 Гц, H-3'), 5,50 (дд, 1H, J 3,5 и 9 Гц, H-3), 7,16–7,60 и 8,0–8,08 (2м, 15H, ароматические протоны). ¹³C-ЯМР: 99,65 (C-1), 101,5 (C-1'), 77,6 (C-2), 69,9 (C-2'), 73,8 (C-3), 74,0 (C-3'), 78,9; 79,1 (2C, C-4,4'), 67,7; 68,4 (2C, C-5,5'), 18,05; 17,95 (2C, C-6,6'), 54,9 (ОСН₃), 74,95; 75,05 (2СН₂Ph), 21,1 (СН₃CO), 165,6 (PhCO). Найдено, %: С 66,73; Н 6,44. С₃₆Н₄₂О₁₁. Вычислено, %: С 66,44; Н 6,51.

Метил-4-О-бензил-2-О-[4-О-бензил-3-О-(2,3,4,6-тетра-О-бензил-α-D-глюкопиранозил)-α-L-рамнопиранозил]-α-L-рамнопиранозид (XIV). Глюкозилбромид (XII) готовили из 0,7 г (1 ммоль) 2,3,4,6-тетра-О-бензил-1-О-п-нитробензоил-α-D-глюкопиранозы [12], как описано нами ранее [1]. К раствору 0,32 г (0,5 ммоль) моноацетата (XI) в 3 мл хлористого метилена добавляли 0,25 г (1 ммоль) Hg(CN)₂ и молекулярные сита 4 Å, перемешивали 30 мин и добавляли к этой смеси раствор полученного бромида (XII) в 5 мл хлористого метилена. Через 1 ч реакцию смесь разбавляли хлороформом (50 мл) и промывали 50 мл воды, раствором KI (50 мл) и водой (50 мл). Органический слой отделяли, упаривали, остаток хроматографировали и получали хроматографически однородную смесь (XIII) и (XVI), R_f 0,7 (B). Повторной хроматографией выделили 80 мг (XIII), [α]_D +45° (с 1,0), ¹³C-ЯМР: 99,8 (C-1), 99,3 (C-1'), 92,8 (C-1''), 17,9; 18,1 (2C, C-6,6'), 20,7 (СН₃CO), 54,8 (ОСН₃), 165,5 (PhCO), 170,0 (СН₃CO). Смесь трисахаридов (XIII) и (XVI) растворяли в 3 мл пиридина и к этому раствору добавляли 1 мл 0,1 М MeONa в метаноле. Через 30 мин реакционную смесь обрабатывали 1 мл 0,1 М СН₃COOH в метаноле, упаривали, остаток хроматографировали в системе бензол → бензол – эфир, 4 : 1. Выделили аномерные трисахариды (XIV) и (XVII). Выход соединения (XIV) 0,23 г (45%), сироп, R_f 0,26 (B), [α]_D +28° (с 1,3). ¹³C-ЯМР: 99,8 (C-1), 101,35 (C-1'), 94,6 (C-1''), 77,05 (C-2), 67,2 (C-2'), 79,4 (C-2''), 71,4 (C-3), 79,4 (C-3'), 82,4; 82,3 (2C, C-3'', 4), 79,4 (C-4'), 78,0 (C-4''), 67,7; 67,9 (2C, C-5,5'), 70,9 (C-5''), 18,1; 17,9 (2C, C-6,6'), 68,2 (C-6''), 75,6; 75,4; 75,0; 74,95; 74,6 (6СН₂Ph), 54,8 (ОСН₃). Найдено, %: С 70,92; Н 7,05. С₆₁Н₇₀О₁₄. Вычислено, %: С 71,32; Н 6,87.

Метил-4-О-бензил-2-О-[4-О-бензил-3-О-(2,3,4,6-тетра-О-бензил-β-D-

глюкопиранозил)- α -L-рамнопиранозил]- α -L-рамнопиранозид (XVII). Выход 87 мг (17%), сироп, R_f 0,18 (Б), $[\alpha]_D -13^\circ$ (с 1,15). ^{13}C -ЯМР: 99,8 (С-1), 102,2 (С-1'), 102,6 (С-1''), 74,35 (С-3), 84,7 (С-3''), 67,0; 68,0 (2С, С-5,5'), 69,0 (С-5''), 18,0 (2С, С-6,6'). Найдено, %: С 70,70; Н 7,06. $\text{C}_{61}\text{H}_{70}\text{O}_{14}$. Вычислено, %: С 71,32; Н 6,87.

Метил-2-О-[3-О-(α -D-глюкопиранозил)- α -L-рамнопиранозил] - α -L-рамнопиранозид (I). Гидрогенолиз 0,35 г (0,34 ммоль) бензилированного трисахарида (XIV) в 12 мл метанола проводили 5 ч (контроль с помощью ТСХ). Раствор фильтровали, осадок промывали несколько раз метанолом, объединенные фильтраты упаривали. Остаток хроматографировали и выделили 0,14 г (85%) незащищенного трисахарида (I) в виде аморфного порошка, R_f 0,58 (Б), $[\alpha]_D +34^\circ$ (с 0,8, MeOH). ^1H -ЯМР: 5,11 (д, 1H, J 4 Гц, H-1''), 5,01 (д, 1H, J 2 Гц, H-1'), 4,80 (д, 1H, J 2 Гц, H-1), 3,36 (с, 3H, OCH₃), 1,30 (д, 6H, J 6 Гц, H-6,6'). Данные ^{13}C -ЯМР см. в таблице.

Метил-3-О-ацетил-4-О-бензил-2-О-[4-О-бензил-3-О-(2,3,4,6-тетра-О-бензил- α -D-глюкопиранозил)- α -L-рамнопиранозил] - α -L-рамнопиранозид (XV). К раствору 1,36 г (1,3 ммоль) соединения (XIV) в смеси 4 мл пиридина и 5 мл хлористого метилена добавляли по каплям в течение 15–20 мин при 0° С раствор 0,14 мл (2 ммоль) хлористого ацетила в 5 мл бензола. Через 10 мин с момента завершения добавления реакционную смесь упаривали, остаток хроматографировали в системе бензол→бензол–эфир, 9 : 1 и получали моноацетат (XV). Выход 1,01 г (72,5%), аморфный порошок, R_f 0,47 (Б), $[\alpha]_D +34^\circ$ (с 1,3). ^{13}C -ЯМР: 99,7 (С-1), 100,9 (С-1'), 94,1 (С-1''), 76,45 (С-2), 67,5 (С-2'), 79,2 (С-2''), 73,4 (С-3), 76,45 (С-3'), 82,4 (С-3''), 79,05; 79,2 (2С, С-4,4'), 77,9 (С-4''), 67,6; 67,85 (2С, С-5,5'), 70,85 (С-5''), 17,8; 18,0 (2С, С-6,6'), 68,1 (С-6''), 75,6; 74,9; 74,8; 74,4 (6CH₂Ph), 54,8 (OCH₃), 21,0 (СН₃CO), 169,9 (СН₃CO). Найдено, %: С 70,69; Н 6,96. $\text{C}_{63}\text{H}_{72}\text{O}_{15}$. Вычислено, %: С 70,76; Н 6,79.

Метил-3-О-ацетил-4-О-бензил-2-О-[4-О-бензил-3-О-(2,3,4,6-тетра-О-бензил- α -D-глюкопиранозил)-2-О-(3,4,6-три-О-ацетил-2-дезоксид-2-фталимидо- β -D-глюкопиранозил)- α -L-рамнопиранозил]- α -L-рамнопиранозид (XIX). К смеси 0,8 г (0,75 ммоль) трисахаридного производного (XV), 0,4 г (1,6 ммоль) Hg(CN)₂ и 0,29 г (0,8 ммоль) HgBr₂, высушенной при 4·10⁻³ мм рт. ст. (вакуумная установка) в течение 10–12 ч, добавляли при перемешивании раствор бромида (XVIII), полученного из 2 г (4,15 ммоль) 1,3,4,6-тетра-О-ацетил-2-дезоксид-2-фталимидо-D-глюкопиранозы по методу [13], в 10–12 мл ацетонитрила. Предварительно бромид (XVIII) был лиофилизирован из бензола и высушен при 4·10⁻³ мм рт. ст. в течение 1–2 ч; ацетонитрил перегнан над СаН₂ в вакуумной установке; смешение реагентов проводили в атмосфере аргона. Реакционную смесь выдерживали 16 ч при 20° С, разбавляли хлороформом (100 мл) и промывали водой (50 мл), насыщенным раствором KI (50 мл) и водой (50 мл). Органический слой отделяли, упаривали, остаток хроматографировали в системе бензол→бензол–эфир, 85 : 15. Выход тетрасахарида (XIX) 0,78 г (69%), сироп, R_f 0,36 (Б), $[\alpha]_D +71^\circ$ (с 1,0). ^{13}C -ЯМР: 99,85 (С-1), 100,8 (С-1'), 97,7 (С-1''), 99,0 (С-1'''), 80,15 (С-2''), 55,3 (С-2'''), 82,1 (С-3''), 79,3 (С-4), 79,75 (С-4'), 78,05 (С-4''), 67,4 (С-5), 67,75 (С-5'), 70,7 (С-5''), 18,05; 17,9 (2С, С-6,6'), 69,25 (С-6''), 61,7 (С-6'''), 54,8 (OCH₃), 20,8; 20,6; 20,55; 20,5 (4СН₃CO).

Метил-3-О-ацетил-4-О-бензил-2-О-[4-О-бензил-3-О-(2,3,4,6-тетра-О-бензил- α -D-глюкопиранозил)-2-О-(2-ацетамидо-3,4,6-три-О-ацетил-2-дезоксид- β -D-глюкопиранозил)- α -L-рамнопиранозил]- α -L-рамнопиранозид (XX). Раствор 0,73 г (0,49 ммоль) фталимидного производного (XIX) в 20 мл этанола кипятили 8 ч с 0,8 мл 85% гидразингидрата. Реакционную смесь упаривали и остаток высушивали в вакууме масляного насоса до исчезновения запаха гидразина. К раствору остатка в 5 мл пиридина добавляли 2 мл уксусного ангидрида, через 3 ч к реакционной смеси добавляли 2 мл метанола, упаривали и остаток хроматографировали. Выход соединения (XX) 0,59 г (86%), аморфный порошок, R_f 0,31 (А), $[\alpha]_D +24^\circ$ (с 0,8). ^{13}C -ЯМР: 99,7 (С-1), 100,3 (С-1'), 94,6 (С-1''), 102,8 (С-1'''),

53,9 (C-2''), 67,5 (C-5), 68,1 (C-5'), 70,3 (C-5''), 73,6 (C-5'''), 18,1 и 17,7 (2С, C-6,6'), 62,1 (C-6'''), 54,8 (ОСН₃), 23,6 (NCOCH₃); 20,8; 20,65; 20,5 (4СН₃СО), 170,85—169,0 (5СН₃СО).

Метил-2-О-[2-О-(2-ацетиламино-2-дезоксид-β-D-глюкопиранозил) - 3 - О-(α-D-глюкопиранозил)-α-L-рамнопиранозил]-α-L-рамнопиранозид (II). Гидрогенолиз 0,3 г (0,21 ммоль) защищенного тетрасахарида (XX) в 10 мл метанола проводили так, как описано при синтезе трисахарида (I). К раствору остатка в 2 мл пиридина добавляли 0,1 мл 1 М MeONa в метаноле, оставляли на 16 ч. К реакционной смеси добавляли 0,1 мл 1 М уксусной кислоты в метаноле, упаривали, остаток хроматографировали. Выход незащищенного тетрасахарида (II) 0,12 г (83%), аморфный порошок, R_f 0,26 (В), $[\alpha]_D +46^\circ$ (с 1,0, MeOH). ¹H-ЯМР: 1,20; 1,23 (2д, 6H, J 6,5 Гц, H-6,6'), 2,04 (с, 3H, CH₃CO), 3,32 (с, 3H, ОСН₃), 3,33—3,46 (м, H-3''', 4'', 4''', 5'''), 3,64 (дд, J 4 и 10 Гц, H-2''), 3,55—3,70 (м, H-5,5', 2'''), 3,86 (дд, J 3,5 и 9,5 Гц, H-3'), 3,88 (дд, J 2 и 3,5 Гц, H-2), 3,97 (м, 1H, H-5''), 4,35 (псевдотриплет, J 2,5 Гц, H-2'), 4,72 (д, 1H, J 1,5 Гц, H-1), 4,75 (д, 1H, J 8,5 Гц, H-1'''), 5,03 (д, 1H, J 2 Гц, H-1'), 5,10 (д, 1H, J 4 Гц, H-1''). Данные ¹³C-ЯМР см. в таблице.

Метил-3-О-(α-D-глюкопиранозил)-α-L-рамнопиранозид (XXII). Раствор 0,3 г (0,38 ммоль) метил-4-О-бензил-3-О-(2,3,4,6-тетра-О-бензил-α-D-глюкопиранозил)-α-L-рамнопиранозид (XXI) [1] в метаноле подвергали гидрогенолизу, как описано при синтезе трисахарида (I). Остаток хроматографировали. Выход 0,1 г (70%), аморфный порошок, R_f 0,51 (Г), $[\alpha]_D +72,8^\circ$ (с 1,0, MeOH). ¹H-ЯМР: 1,35 (д, 3H, J 6 Гц, H-6), 3,49 (дд, 1H, J 9 Гц, H-4'), 3,58 (т, 1H, J 9,5 Гц, H-4), 3,60 (дд, 1H, J 4 и 10 Гц, H-2'), 3,65—3,76 (м, 1H, H-5), 3,77—3,87 (м, 2H, H-3,3'), 3,98 (м, 1H, H-5'), 4,15 (дд, 1H, J 2 и 3,5 Гц, H-2), 4,79 (д, 1H, J 2 Гц, H-1), 5,09 (д, 1H, J 4 Гц, H-1'). Данные ¹³C-ЯМР см. в таблице.

Анализ соединения (II) с помощью хроматомасс-спектрометрии. 4 мг тетрасахарида (II) метилировали по Хакомори, далее подвергали формолизу 85% HCOOH, гидролизу 0,3 н. HCl и восстановлению NaBH₄ [9]. После восстановления NaBH₄ реакционную смесь подкисляли уксусной кислотой, упаривали, упаривали 3 раза с метанолом, добавляли пиридин и уксусный ангидрид и нагревали 2 ч при 100°С. Затем к реакционной смеси добавляли 1 мл спирта, оставляли на 1 ч, разбавляли хлороформом и трижды промывали водой. Хлороформный слой анализировали с помощью ГЖХ и ГЖХ-масс-спектрометрии. Пики с временами удерживания (относительно 1,5-ди-О-ацетил-2,3,4,6-тетра-О-метил-D-глюцита) 0,87; 1,00; 1,13 и 3,2 (ГЖХ) идентифицированы по масс-спектрам как ацетаты 3,4-ди-О-метилрамнита, 2,3,4,6-тетра-О-метилглюцита, 4-О-метилрамнита и 2-дезоксид-3,4,6-три-О-метил-2-(N-метилацетиламино)глюцита (ср. [9] и [10]).

ЛИТЕРАТУРА

1. Бакиновский Л. В., Гомция А. Р., Байрамова Н. Э., Кочетков Н. К. Биоорганическая химия, 1984, т. 10, № 1, с. 79—87.
2. Haines A. H. Carbohydr. Res., 1969, v. 10, № 3, p. 466—467.
3. Ogawa T., Matsui M. Tetrahedron, 1981, v. 37, № 13, p. 2363—2369.
4. Овчинников М. В., Байрамова Н. Э., Бакиновский Л. В., Кочетков Н. К. Биоорганическая химия, 1983, т. 9, № 3, с. 391—400.
5. Pozsgay V., Neszmélyi A. Carbohydr. Res., 1980, v. 80, № 1, p. 196—202.
6. Backinowsky L. V., Balan N. F., Shashkov A. S., Kochetkov N. K. Carbohydr. Res., 1980, v. 84, № 2, p. 225—235.
7. Вуратова Н. Е., Овчинников М. В., Backinowsky L. V., Kochetkov N. K. Carbohydr. Res., 1983, v. 124, № 1, p. C8—C11.
8. Шашков А. С., Сауридов А. Ф., Арифходжаев Х. А., Чижов О. С. Биоорганическая химия, 1982, т. 8, № 9, с. 1252—1255.
9. Jansson P.-E., Kenne L., Liedgren H., Lindberg B., Lönngren J. Chem. Commun. Univ. Stockholm, 1976, № 8, p. 1—75.
10. Stellner K., Saito H., Nakomori S. Arch. Biochem. and Biophys., 1973, v. 155, № 2, p. 464—472.
11. Карякин Ю. В., Ангелов Н. И. Чистые химические реактивы. М.: Госхимиздат, 1955, с. 456—457.

12. Гладеманс Ч. П. Д., Флетчер Х. Г. В кн.: Методы исследования углеводов. М.: Мир, 1975, с. 286.
13. Baluja G., Chase B. H., Kenner G. W., Todd A. J. Chem. Soc., 1960, № 11, p. 4678-4681.

Поступила в редакцию
30.VII.1984

SYNTHESIS OF OLIGOSACCHARIDE FRAGMENTS OF *SHIGELLA*
FLEXNERI O-SPECIFIC POLYSACCHARIDE. II. SYNTHESIS OF
TRISACCHARIDE $\text{Glc}\alpha 1 \rightarrow 3\text{Rha}\alpha 1 \rightarrow 2\text{Rha}\alpha 1 \rightarrow \text{OMe}$ AND TETRASACCHARIDE
 $\text{GlcNAc}\beta 1 \rightarrow 2(\text{Glc}\alpha 1 \rightarrow 3)\text{Rha}\alpha 1 \rightarrow 2\text{Rha}\alpha 1 - \text{OMe}$

BACKINOWSKY L. V., GOMTSYAN A. R., BYRAMOVA N. É.,
KOCHETKOV N. K.

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

Methyl glycosides of the title linear trisaccharide and branched tetrasaccharide were synthesized by stepwise glycosylation. These oligosaccharides represent the fragments of O-antigenic polysaccharides of *Shigella flexneri* serotypes 2b, 3a, 5b, and X.