



УДК 547.458.057

## СИНТЕЗ 6-АМИНОГЕКСИЛГЛИКОЗИДОВ ПОЛИСАХАРИДА СТРЕПТОКОККОВ ГРУППЫ А-ВАРИАНТ И ЕГО ФРАГМЕНТОВ

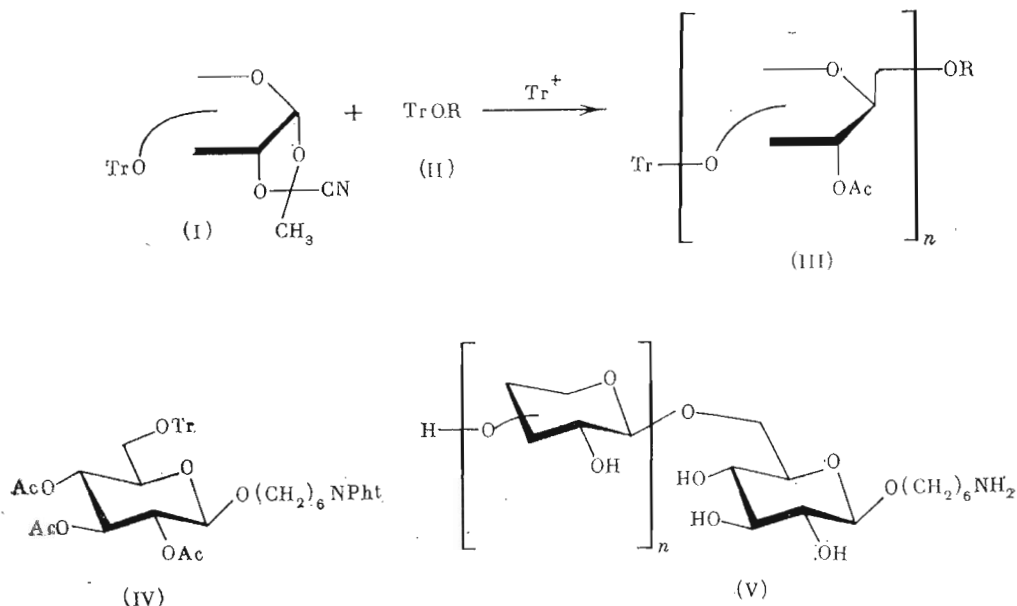
*Цветков Ю. Е., Бухаров А. В., Бакиновский Л. В., Кочетков И. К.*

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

Полыконденсация 4-О-бензоил-3-О-(3,4-ди-О-бензоил-2-О-тримил- $\alpha$ -L-рамнопиранозил)-1,2-О-(1-цианоэтилиден)- $\beta$ -L-рамнопиранозы в присутствии 6-фталимидогексил-3,4-ди-О-бензоил-2-О-тримил- $\alpha$ -L-рамнопиранозида приводит, после удаления защитных групп, к полисахариду, построенному из дисахаридных повторяющихся звеньев  $\rightarrow 2$ ) Rha ( $\alpha 1 \rightarrow 3$ ) Rha ( $\alpha 1 \rightarrow$  и содержащему на восстанавливающем конце 6-аминогексилрамнозидный остаток. Полученный полисахарид отвечает по структуре полисахариду стрептококков группы А-вариант. Описан синтез 6-аминогексил-2- и 3-О- $\alpha$ -L-рамнопиранозил- $\alpha$ -L-рамнопиранозидов, соответствующих двум возможным повторяющимся звеньям полисахарида.

Недавно нами предложен подход к синтезу полисахаридов типа (III) с заданной группировкой R на восстанавливающем конце полимерной цепи (схема 1) заключающийся в поликонденсации мономера (I) — тримитированного 1,2-О-цианоэтилиденового производного моно- или олигосахарида — в присутствии тримитилового эфира-терминатора (II) [1, 2]. В качестве последнего мы использовали ранее 6-фталимидогексилгликозид (IV).

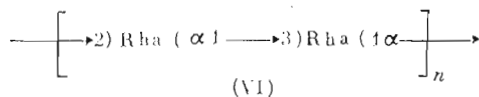
Схема 1



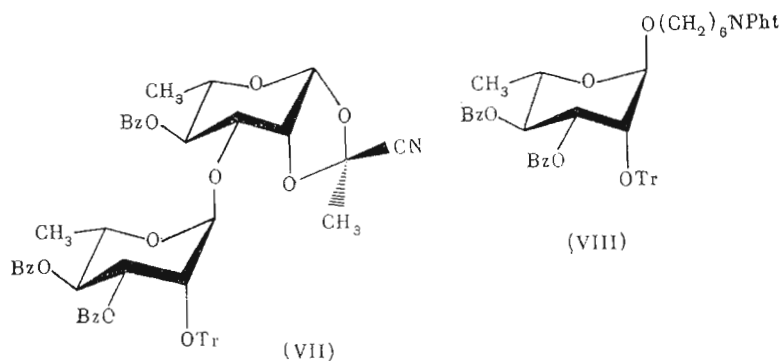
Наличие концевой аминогруппы в получаемых после удаления защит полисахаридах типа (V) позволяло отделять их от нейтральных полимеров, образующихся в результате самоконденсации мономеров (I), а также давало возможность осуществлять ковалентное связывание таких полисахаридов с полимерными носителями. Конъюгаты полисахаридов типа (V)

с белковыми или синтетическими носителями могут использоваться как искусственные антигены и иммуносорбенты.

В настоящем сообщении описывается получение 6-аминогексилгликозидов полисахарида стрептококков группы А-вариант и его фрагментов. Этот полисахарид представляет собой линейный  $\alpha$ -L-рамнан (VI), построенный из чередующихся остатков 2- и 3-замещенной рамнозы [3].

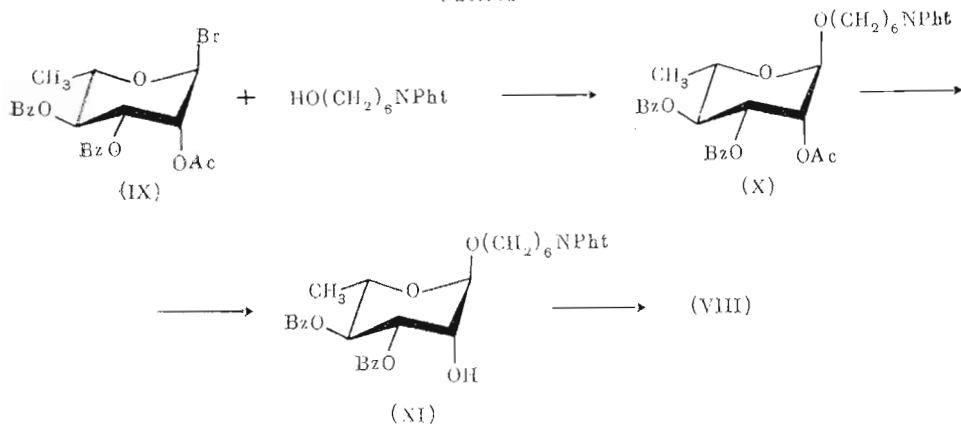


Синтез дисахаридного мономера (VII), отвечающего по структуре повторяющемуся звену целевого полисахарида (VI), был описан ранее [4]. Так как нами было показано, что для успешного синтеза полисахаридов типа (III) необходимо, чтобы тритилоксигруппа в мономере и тритиловом эфире-терминаторе обладали близкой реакционной способностью [2], в данном случае в качестве тритилового эфира-терминатора мы использовали рамнозид (VIII), структура которого моделирует структуру невосстанавливающего гликозилакцепторного звена в мономере (VII).



Синтез рамнозида (VIII) был проведен следующим образом (схема 2): взаимодействием рамнозилбромида (IX) [5] с 6-фталимидогексанолом в присутствии  $\text{Hg}(\text{CN})_2$  в ацетонитриле с высоким выходом получен рамнозид (X). Избирательное дезацетилирование последнего в условиях мягкого кислотного метанолиза [6] приводит к моногидроксильному производному (XI), тритилирование которого перхлоратом трифенилметилля в присутствии 2,4,6-коллидина дает целевой тритиловый эфир (VIII).

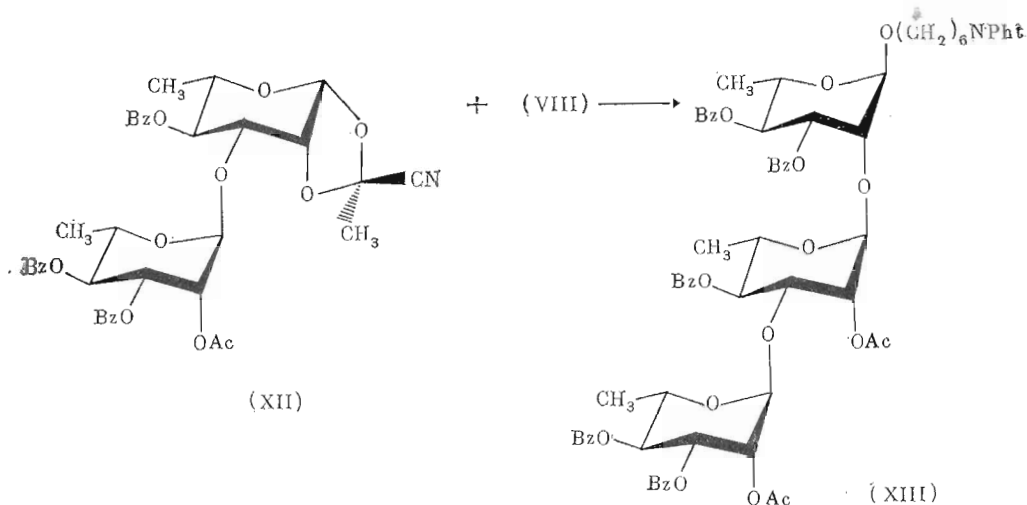
Схема 2



Первоначально мы провели реакцию гликозирования тритилового эфира (VIII) цианозтилиденным производным (XII) [5], которая моделирует начало роста полисахаридной цепи на тритиловом эфире-термина-

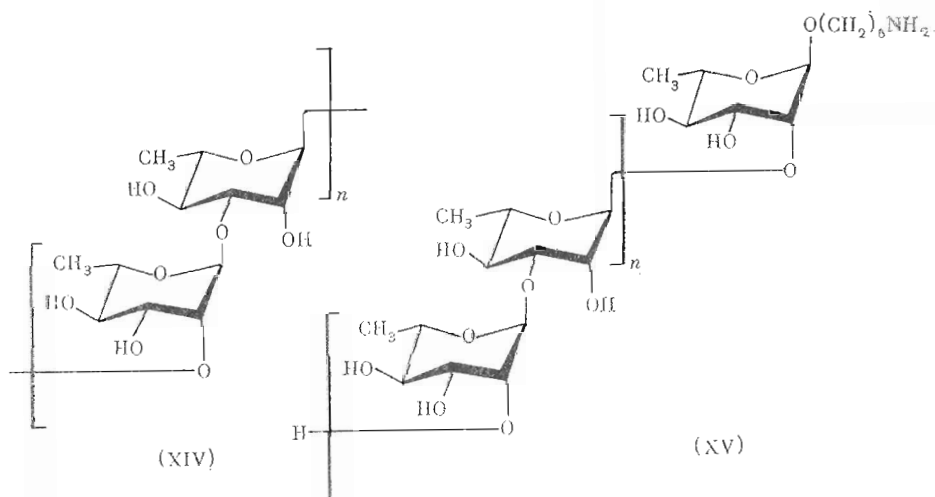
горе (схема 3). В результате реакции был получен трисахарид (XIII), выход которого (42%) оказался неожиданно низким.

Схема 3



Предварительные эксперименты по поликонденсации мономера (VII) показали, что в отсутствие тритилового эфира (VIII) образуется  $\alpha$ -L-рамнан (XIV) относительно невысокой молекулярной массы: наиболее высокомолекулярная фракция ( $n=10-11$ ) была выделена с выходом 11%. Степень поликонденсации полисахарида (XIV) определяли по соотношению интегральной интенсивности сигналов конечного невосстанавливающего и «внутренних» остатков рамнозы в спектре  $^{13}\text{C}$ -ЯМР.

В результате поликонденсации мономера (VII) в присутствии (VIII) (соотношение (VII):(VIII)=10:1) в описанных ранее условиях [1, 2] была получена смесь нейтрального и основного полисахаридов (XIV) и (XV) с преобладанием первого. Степень поликонденсации выделенного с низким выходом продукта (XV) также была небольшой (~3). Приведенные данные по синтезу трисахарида (XIII) и полисахаридов (XIV) и (XV) свидетельствуют, что поликонденсация мономера (VII) в отсутствие или в присутствии тритилового эфира (VIII) протекает с трудом, что связано, вероятно, с пониженной реакционной способностью аксиальной тритилокси-группы при С-2 в остатке рамнозы.

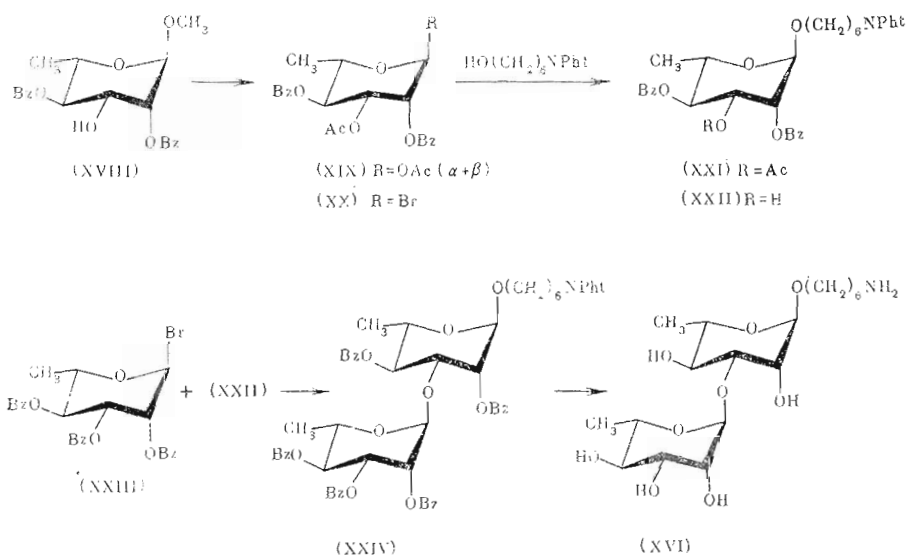


При проведении реакции поликонденсации путем медленного (~9 ч) прибавления раствора мономера (VII) к тритилому эфиру (VIII) [2]

(соотношение (VII):(VIII)=20:1) после удаления защитных групп и фракционирования была выделена с выходом 5,5% наиболее высокомолекулярная фракция полимера (XV) со степенью поликонденсации 6–7, считая на дисахаридное повторяющееся звено.

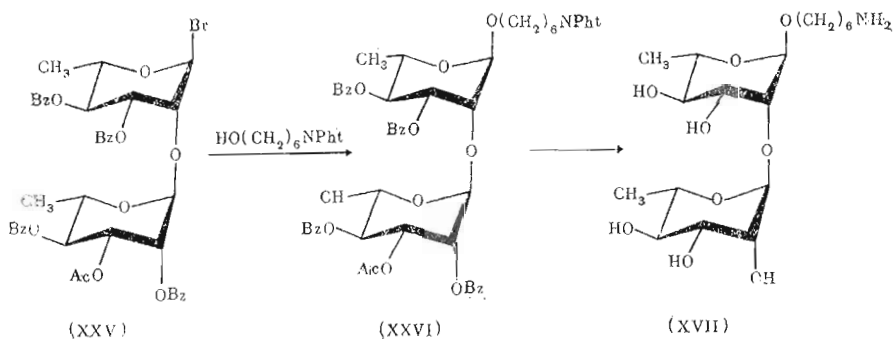
Для иммунологического изучения были синтезированы два дисахарида – (XVI) и (XVII) (схемы 4 и 5), отвечающие двум возможным химическим повторяющимся звеньям полисахарида (VI). Исходным для синтеза дисахарида (XVI) служил дибензоат (XVIII) [7], ацетилизмом которого получен диацетат (XIX). Стандартная обработка последнего HBr в уксусной кислоте приводит к рамнозилбромиду (XX); гликозилирование 6-фталимидогексанола бромидом (XX) в присутствии Hg(CN)<sub>2</sub> дает гликозид (XXI). Обработкой HCl в метаноле (XXI) превращают в моногидроксильное производное (XXII), взаимодействием которого с бензобромрамнозой (XXIII) в условиях Гельфериха получают защищенный дисахарид (XXIV).

Схема 4



Предшественник дисахарида (XVII) – производное (XXVI) – был получен реакцией дисахаридного бромиды (XXV), синтез которого будет описан отдельно, с 6-фталимидогексанолом в присутствии Hg(CN)<sub>2</sub>. Удаление защитных групп в защищенных производных (XXIV) и (XXVI) приводит к целевым дисахаридам (XVI) и (XVII).

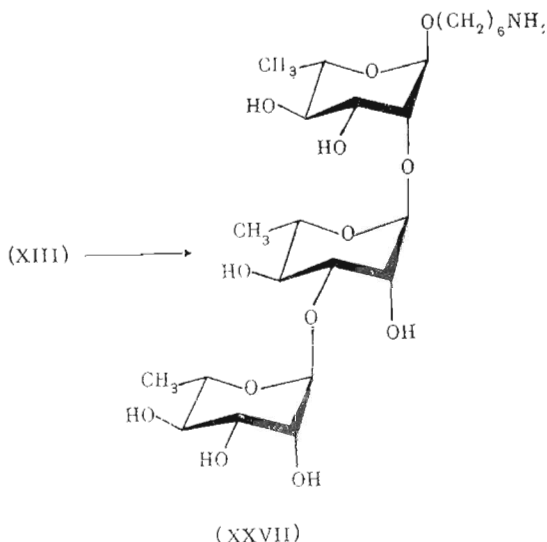
Схема 5



Для сравнения иммунологической активности полисахарида (XV) (6–7 дисахаридных звеньев) с активностью олигосахарида, отвечающего од-

тому повторяющемуся звену, защищенное производное (XIII) было превращено в свободный трисахарид (XXVII) (схема 6).

Схема 6



Строение полученных олиго- и полисахаридов было подтверждено с помощью спектроскопии  $^{13}\text{C}$ -ЯМР. Используя данные спектров дисахаридов (XVI) и (XVII) в качестве модельных, мы провели полное отнесение сигналов в спектрах полисахаридов (XIV) и (XV). Основные сигналы относятся к дисахаридному повторяющемуся звену, состоящему из остатков 2- и 3-замещенной рамнозы, и практически совпадают с сигналами в спектре природного полисахарида [3]. Минорные сигналы, интенсивность которых в случае полисахарида (XV) составляет  $\sim 0,15$  от интенсивности основных сигналов, относятся к концевому дисахаридному фрагменту невосстанавливающего конца и 2-замещенному 6-аминогексилрамнозидному остатку, находящемуся на восстанавливающем конце цепи. Последнему фрагменту соответствуют характерные сигналы 99,61 (C-1), 79,83 (C-2) и 70,11 (C-5); значения химических сдвигов соответствующих сигналов составляют 99,57; 80,08 и 70,00 м.д. в случае дисахаридов (XVI) и 99,53; 80,01 и 70,06 м.д. для трисахаридов (XXVII). Незамещенному остатку рамнозы невосстанавливающего конца можно приписать минорные сигналы 103,63 (C-1), 73,31 (C-4) и 70,42 (C-5), поскольку сигналы соответствующих атомов углерода незамещенного остатка рамнозы лежат при 103,61; 73,27 и 70,31 м.д. для дисахаридов (XVI) и 103,67; 73,24 и 70,41 для трисахаридов (XXVII). В спектре  $^{13}\text{C}$ -ЯМР полисахарида (XIV) химические сдвиги сигналов малой интенсивности ( $\sim 0,1$  от интенсивности сигналов дисахаридного повторяющегося звена) практически совпадают с таковыми для дисахаридного звена невосстанавливающего конца полисахарида (XV). Другие минорные сигналы, которые можно было бы отнести к рамнозному остатку, находящемуся на восстанавливающем конце цепи, в спектре полимера (XIV) отсутствуют. Неопределенность в структуре восстанавливающего конца (в частности, отсутствие сигналов концевого моносахаридного остатка в спектрах  $^{13}\text{C}$ -ЯМР) полисахаридов, полученных поликонденсацией тритиловых эфиров 1,2-О-дианоэтилиденных производных сахаров, отмечалась и ранее (см., например, [8–10]).

Таким образом, нами синтезированы полисахарид стрептококков группы А-вариант и его ди- и трисахаридные фрагменты в виде 6-аминогексилгликозидов, пригодные для конъюгации с полимерным носителем.

#### Экспериментальная часть

Оптическое вращение измеряли на приборе Jasco DIP-360 при  $22 \pm 2^\circ$ . Спектры  $^1\text{H}$ - и  $^{13}\text{C}$ -ЯМР защищенных производных снимали на приборах Bruker WM-250 и Bruker AM-300 в дейтерохлороформе. Спектры  $^{13}\text{C}$ -ЯМР свободных олиго- и поли-

сахаридов снимали на приборе Bruker AM-300 в D<sub>2</sub>O, внутренний стандарт – метанол (δ 50,15 м.д.). Для ТСХ использовали пластинки с силикагелем Kieselgel 60 F<sub>254</sub>, вещества обнаруживали в УФ-свете или путем опрыскивания 70% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> с последующим нагреванием при 150°С. Колоночную хроматографию проводили на силикагеле L 40/100 или 100/160 мкм (ЧССР), гель-хроматографию – на колонках с биогеом P-4 (-400 меш, 2,5×50 см) (колонка А) и фрактогелем TSK-40 HW(S) (2,5×75 см, V<sub>0</sub> 120 мл) (колонка Б) в 0,1 н. уксусной кислоте (скорость элюирования 1 мл/мин). В качестве детектора использовали проточный рефрактометр Клауер. Растворители очищали как в работе [11]. Арилизированные производные превращали в соответствующие гликозилбромиды по методике [5].

*6-Фталимидогексил-2-О-ацетил-3,4-ди-О-бензоил-α-L-рамнопиранозид (X)*. К суспензии 510 мг (2,05 ммоль) 6-фталимидогексанола и 710 мг (2,82 ммоль) Hg(CN)<sub>2</sub> в 2,5 мл ацетонитрила прибавляли раствор бромид (IX), полученного из 2,82 ммоль 1,2-ди-О-ацетил-3,4-ди-О-бензоил-α-L-рамнопиранозы [5], в 5 мл ацетонитрила и перемешивали 4–5 ч. Смесь упаривали, разбавляли 100 мл хлороформа, промывали водой, раствором КВг, водой и упаривали. После колоночной хроматографии получили 1,18 г (90%) рамнозида (X), сироп, [α]<sub>D</sub> +42,6° (с 1,6 хлороформ). Спектр <sup>1</sup>H-ЯМР (δ, м.д.): 1,31 (д, 3H, J<sub>6,5</sub> 6 Гц, H-6), 1,30; 1,70 (2 м, 8H, 4 -CH<sub>2</sub>-), 2,13 (с, 3H, CH<sub>3</sub>CO), 3,48 (дт, 1H, J<sub>α,β</sub> 6 Гц, J<sub>α,α'</sub> 9,5 Гц, H<sub>α</sub>)\*, 3,71 (т, 2H, J 7 Гц, CH<sub>2</sub>-N), 3,74 (дт, J<sub>α,β</sub> 6,5 Гц, H<sub>α</sub>'), 4,11 (дк, 1H, H-5), 4,83 (д, 1H, J<sub>1,2</sub> 2 Гц, H-1), 5,44 (дд, 1H, J<sub>2,3</sub> 3,5 Гц, H-2), 5,53 (т, 1H, J<sub>4,5</sub> 10 Гц, H-4), 5,69 (дд, 1H, J<sub>3,4</sub> 10 Гц, H-3). Спектр <sup>13</sup>C-ЯМР (δ, м.д.): 97,68 (C-1), 70,11; 70,44 (C-2, C-3), 71,83 (C-4), 66,71 (C-5), 17,67 (C-6), 68,33 (C<sub>α</sub>), 38,02 (CH<sub>2</sub>-N), 25,80; 26,73; 28,62; 29,39 (4-CH<sub>2</sub>-).

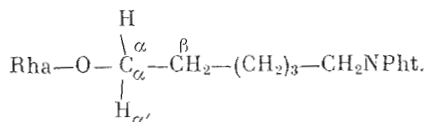
*6-Фталимидогексил-3,4-ди-О-бензоил-α-L-рамнопиранозид (XI)*. К раствору 1,65 г (2,56 ммоль) ацетата (X) в 15 мл хлороформа прибавляли раствор, полученный смешением при 0°С 15 мл метанола и 1,82 мл ацетилхлорида. Реакционную смесь оставляли на 15 ч при 5°С, прибавляли насыщенный раствор KHCО<sub>3</sub> до нейтральной реакции, упаривали, остаток суспендировали в 150 мл хлороформа, промывали водой и упаривали. Колоночной хроматографией выделено 400 мг (24%) исходного (X) и 740 мг (49%) продукта дезацетилирования (XI), сироп, [α]<sub>D</sub> +38,1° (с 0,63, хлороформ). Спектр <sup>1</sup>H-ЯМР (δ, м.д.): 1,30 (д, 3H, J<sub>6,5</sub> 6 Гц, H-6), 1,42; 1,70 (2 м, 8H, 4 -CH<sub>2</sub>-), 2,58 (д, 1H, J<sub>2,OH</sub> 4 Гц, OH), 3,49 (дт, 1H, J<sub>α,β</sub> 6 Гц, J<sub>α,α'</sub> 9,5 Гц, H<sub>α</sub>), 3,70 (т, 2H, J 7 Гц, CH<sub>2</sub>-N), 3,75 (дт, 1H, J<sub>α,β</sub> 6,5 Гц, H<sub>α</sub>'), 4,09 (дк, 1H, H-5), 4,29 (м, 1H, H-2), 4,88 (д, 1H, J<sub>1,2</sub> 2 Гц, H-1), 5,59 (м, 2H, H-3, H-4). Спектр <sup>13</sup>C-ЯМР (δ, м.д.): 99,69 (C-1), 69,85 (C-2), 72,87 (C-3), 71,78 (C-4), 66,63 (C-5), 17,65 (C-6), 68,07 (C<sub>α</sub>), 38,01 (CH<sub>2</sub>-N), 25,78, 26,69; 28,59; 29,33 (4-CH<sub>2</sub>-).

*6-Фталимидогексил-3,4-ди-О-бензоил-2-О-тритил-α-L-рамнопиранозид (VIII)*. К раствору 590 мг (0,98 ммоль) производного (XI) и 0,24 мл (1,04 ммоль) 2,4,6-коллиндина в 6 мл хлористого метилена прибавляли при перемешивании 345 мг (1 ммоль) перхлората трифенилметилена. Через 1 ч реакционную смесь разбавляли 100 мл хлороформа, промывали водой и упаривали. Из остатка колоночной хроматографией выделено 670 мг (81%) тритилового эфира (VIII), аморфный, [α]<sub>D</sub> +19,8° (с 1,7, хлороформ). Спектр <sup>1</sup>H-ЯМР (δ, м.д.): 1,37 (д, 3H, J<sub>6,5</sub> 6 Гц, H-6), 1,40; 1,70 (2 м, 8H, 4 -CH<sub>2</sub>-), 2,98 (дт, 1H, J<sub>α,β</sub> 6 Гц, J<sub>α,α'</sub> 10 Гц, H<sub>α</sub>), 3,39 (дт, 1H, J<sub>α,β</sub> 6,5 Гц, H<sub>α</sub>'), 3,56 (д, 1H, J<sub>1,2</sub> 1,5 Гц, H-1), 3,69 (т, 2H, J 7,5 Гц, CH<sub>2</sub>-N), 3,99 (дк, 1H, H-5), 4,14 (дд, 1H, J<sub>2,3</sub> 3,5 Гц, H-2), 5,54 (дд, 1H, J<sub>3,4</sub> 10,5 Гц, H-3), 5,93 (т, 1H, J<sub>4,5</sub> 10,5 Гц, H-4). Спектр <sup>13</sup>C-ЯМР (δ, м.д.): 98,29 (C-1), 71,93; 72,25; 72,38 (C-2, C-3, C-4), 66,78 (C-5), 18,10 (C-6), 69,01 (C<sub>α</sub>), 38,10 (CH<sub>2</sub>-N), 25,77; 26,74; 28,65; 29,24 (4-CH<sub>2</sub>-).

*6-Фталимидогексил-О-(2-О-ацетил-3,4-ди-О-бензоил-α-L-рамнопиранозил) - (1→3)-О-(2-О-ацетил-4-О-бензоил-α-L-рамнопиранозил)-(1→2)-3,4-ди-О-бензоил-α-L-рамнопиранозид (XIII)*. С использованием вакуумной техники (см. ниже) в течение 20 ч проводили конденсацию 206 мг (0,29 ммоль) шизоэтилденевого производного (XII) [5] и 247 мг (0,29 ммоль) тритилового эфира (VIII) в присутствии 10 мг (0,029 ммоль) перхлората трифенилметилена в 5 мл хлористого метилена. К смеси прибавляли каплю пиридина, разбавляли 100 мл хлороформа, промывали 1 н. HCl, водой и упаривали. Из остатка колоночной хроматографией выделено 158 мг (42,5%) трисахарида (XIII), аморфный, [α]<sub>D</sub> +61,9° (с 0,8, хлороформ). Спектр <sup>1</sup>H-ЯМР (δ, м.д.): 1,29; 1,35; 1,37 (3 д, каждый 3H, J<sub>6,5</sub> 6,5 Гц, H-6, H-6', H-6''), 1,46; 1,70 (2 м, 8H, 4 -CH<sub>2</sub>-), 1,89; 2,21 (2 с, каждый 3H, 2 CH<sub>3</sub>CO), 3,50 (дт, J<sub>α,β</sub> 6,5 Гц, J<sub>α,α'</sub> 10 Гц, H<sub>α</sub>), 3,72 (т, 2H, J 7,5 Гц, CH<sub>2</sub>-N), 3,77 (дт, 1H, J<sub>α,β</sub> 6,5 Гц, H<sub>α</sub>'), 4,12 (м, 2H, H-5, H-5''), 4,25 (дд, 1H, J<sub>2,3</sub> 3 Гц, H-2), 4,32 (дк, 1H, H-5'), 4,55 (дд, 1H, J<sub>3,4</sub> 10 Гц, H-3'), 4,93 (д, 1H, J<sub>1,2</sub> 1,5 Гц), 4,96 (д, 1H, J<sub>1,2</sub> 1,5 Гц), 5,07 (д, J<sub>1,2</sub> 2 Гц) (H-1, H-1', H-1''), 5,20 (дд, 1H, J<sub>2,3</sub> 3,5 Гц, H-2'), 5,41–5,62 (м, 5H, H-3, H-4, H-2, H-4', H-4''), 5,75 (дд, 1H, J<sub>3,4</sub> 10 Гц, H-3''). Спектр <sup>13</sup>C-ЯМР (δ, м.д.): 98,93; 99,95×2 (C-1, C-1', C-1''), 77,56 (C-2, C-3'), 68,23 (C<sub>α</sub>), 67,76 (C-5', C-5''), 66,97 (C-5), 17,55; 17,77 (C-6, C-6', C-6'').

*α-L-Рамнан (XIV)*. В одно колено λ-образной ампулы вносили раствор 458 мг (0,5 ммоль) мономера (VII) [4] в 3 мл бензола, в другое – раствор 17 мг (0,05 ммоль)

\* При описании спектров 6-фталимидогексильной группы использованы следующие обозначения:



перхлората трифенилметилля в 0,5 мл нитрометана. Ампулу присоединяли к вакуумной установке и содержимое лиофилизовали. В колбено с мономером перегоняли 3 мл бензола\* и лиофилизовали повторно. В ампулу перегоняли 3 мл хлористого метилена, растворы мономера и катализатора смешивали и оставляли на 18 ч при 20° С. К смеси прибавляли 1 мл 90% трифторуксусной кислоты, через 30–40 мин нейтрализовали избытком пиридина, разбавляли 100 мл хлороформа, промывали водой, 1 н. HCl, водой и упаривали. Остаток хроматографировали в градиенте бензол – этилацетат, фракции, не содержащие TrOH и TrCN, упаривали. К полученному продукту прибавляли 10 мл метанола и 5 мл 1 н. MeONa в метаноле и кипятили 1,5 ч. Прибавляли катионит КУ-2 (H<sup>+</sup>) до нейтральной реакции, фильтровали, фильтрат упаривали. Остаток растворяли в 10 мл воды, промывали гексаном, водный раствор упаривали. Остаток пропускали через колонку Lichnorgor RP-8 в 10% водн. метаноле, собирая продукт, элюирующийся со свободным объемом колонки. Элюат упаривали, остаток подвергали гель-хроматографии на колонке Б. Собирали две фракции с объемами элюирования 120–170 и 170–220 мл соответственно. Выход высокомолекулярной фракции 17 мг (10,6%),  $[\alpha]_D^{20} - 94,4^\circ$  (с 1,2, вода), низкомолекулярной – 46 мг (28,4%),  $[\alpha]_D^{20} - 61,4^\circ$  (с 1,4, вода). Спектр <sup>13</sup>C-ЯМР (δ, м.д.) высокомолекулярной фракции: 103,14 (C-1A)\*\*, 102,03 (C-1B), 79,17 (C-2B), 78,77 (C-3A), 73,51 (C-4B), 72,82 (C-4A), 71,20, 71,45 (C-2A, C-3B), 70,55; 70,42 (C-5A, C-5B), 17,96; 17,83 (C-6A, C-6B), 103,3 (C-1B'), 73,3 (C-4B'), 71,4 (C-2B', C-3B'). Интенсивность сигналов концевой псевдоставляющего остатка рамнозы составляет ~0,1 от интенсивности сигналов повторяющегося звена.

**6-Аминооксиаггликозид α-L-рамнана (XV).** В одно колбено реакционной ампулы вносили раствор 84 мг (0,1 ммоль) тритилового эфира (VIII) в 2 мл бензола, в другое – раствор 34 мг (0,1 ммоль) перхлората трифенилметилля в 0,5 мл нитрометана. Ампулу присоединяли к вакуумной установке, содержимое лиофилизовали, после чего проводили повторно лиофилизацию тритилового эфира (VIII) из 2 мл бензола. Одновременно проводили двукратную лиофилизацию 1,83 г (2 ммоль) мономера (VII) из 5 мл бензола. В реакционную ампулу перегоняли 3 мл хлористого метилена, а в колбу с мономером – 7 мл хлористого метилена. Систему заполняли сухим аргоном, реакционную ампулу герметизировали с помощью силиконовой крышки, растворы катализатора и тритилового эфира (VIII) смешивали. С помощью шприца в полученную смесь вводили раствор мономера (VII) при перемешивании в течение 9 ч. Через 40 ч продукт поликонденсации обрабатывали и выделяли защищенный продукт в смеси 15 мл этанола и 1,5 мл гидразингидрата кипятили 7 ч, растворитель упаривали, избыток гидразингидрата соупаривали с бутанолом, псевдоводные продукты гидразинолиза отделяли гель-хроматографией на колонке А. Углеводную фракцию растворяли в 10 мл метанола, прибавляли 5 мл 1 н. MeONa в метаноле и кипятили 2 ч. Прибавляли уксусную кислоту до нейтральной реакции, упаривали и обессоливали на колонке А. Раствор свободного полисахарида в 3 мл 0,1 н. уксусной кислоты наносили на колонку с 5 мл даяэкса 50×2 (H<sup>+</sup>) и промывали 150 мл 0,1 н. уксусной кислоты и 150 мл воды, элюаты упаривали и получали нейтральную фракцию. Гель-хроматографией последней на колонке Б получено 103 мг (16%) полисахарида (XIV), идентичного по спектру <sup>13</sup>C-ЯМР описанному выше. Колонку с катионитом промывали 300 мл 1 н. NH<sub>4</sub>OH, элюат упаривали и получали основную фракцию, которую подвергали гель-хроматографии на колонке Б. Элюат, собранный в интервале 120–170 мл, упаривали и получали 35 мг (5,5%) высокомолекулярной фракции полисахарида (XV),  $[\alpha]_D^{20} - 64,3^\circ$  (с 0,94, вода). Спектр <sup>13</sup>C-ЯМР: 103,63 (C-1B'), 103,31 (C-1A), 102,17 (C-1B), 99,61 (C-1)\*\*\*, 79,83 (C-2)\*\*\*, 79,41 (C-3A'), 79,26 (C-2B), 78,82 (C-3A), 73,52 (C-4B), 73,31 (C-4B'), 72,93 (C-4A), 72,64 (C-4A'), 71,45 (C-2B', C-3B'), 71,20 (C-2A, C-3B), 70,63 70,55 (C-5A, C-5B), 70,42 (C-5B'), 70,11 (C-5)\*\*\*, 69,20 (C<sub>α</sub>), 40,77 (CH<sub>2</sub>-N), 26,16; 26,63; 27,93; 29,50 (4-CH<sub>2</sub>), 17,93; 18,04 (C-6A, C-6B).

**1,3-Ди-О-ацетил-2,4-ди-О-бензоил-α,β-L-рамнопираноза (XIX).** К раствору 1,16 г (3 ммоль) метилгликозида (XVIII) [7] в 4 мл уксусного ангидрида прибавляли при 5° С раствор 50 мкл конц. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> в 2 мл уксусного ангидрида. Через 2,5 ч смесь выливали в лед, перемешивали 2 ч, водный слой отделяли, сиропообразный продукт растворяли в 100 мл хлороформа, промывали водой, раствором NaHCO<sub>3</sub> водой и упаривали. После колоночной хроматографии получено 1,31 г (95%) смеси α- и β-ацетатов (XIX) в соотношении ~7:1. Сироп,  $[\alpha]_D^{20} + 51,3^\circ$  (с 1,35, хлороформ). Спектр <sup>1</sup>H-ЯМР (δ, м.д.): 1,36 (д. 3H, J<sub>6,5</sub> 6 Гц, H-6α), 1,42 (д. 0,45H, J<sub>6,5</sub> 6 Гц, H-6β), 1,90; 2,24 (2 с, каждый 3H, 2 CH<sub>3</sub>CO), 4,17 (дк. 1H, H-5α), 5,52 (т, 1H J<sub>4,5</sub> 10 Гц, H-4α), 5,56 (дк. 1H, J<sub>2,3</sub> 3 Гц, H-2α), 5,64 (дк. 1H, J<sub>3,4</sub> 10 Гц, H-3α), 6,03 (д. 0,15H, J<sub>1,2</sub> 1 Гц, H-1β), 6,23 (д. 1H, J<sub>1,2</sub> 2 Гц, H-1α).

**6-Фталимидогексил-3-О-ацетил-2,4-ди-О-бензоил-α-L-рамнопиранозид (XXI).** К суспензии 1,37 г (5,4 ммоль) 6-фталимидогексанола и 1,92 (7,6 ммоль) диангидра ртути в 6,5 мл ацетонитрила прибавляли при перемешивании раствор бромид (XX), полученного из 3,4 г (7,63 ммоль) диацетата (XIX), в 10 мл ацетонитрила. Через 6 ч

\* Бензол и хлористый метилен дважды перегнаны над CaH<sub>2</sub> в вакуумной установке.

\*\* А – остаток 3-замещенной рамнозы, В – остаток 2-замещенной рамнозы; штрихом помечены атомы углерода кольцевого псевдоставляющего дисахаридного звена.

\*\*\* Атомы углерода остатка рамнозы, связанной с агликоном.

реакционную смесь упаривали, остаток разбавляли 150 мл хлороформа, промывали раствором КВг, водой и упаривали. Колоночной хроматографией выделено 3,29 г (91%) гликозида (XXI), аморфный,  $[\alpha]_D^{+49,7^\circ}$  (с 2, хлороформ). Спектр  $^1\text{H-NMR}$  ( $\delta$ , м.д.): 1,32 (д, 3H,  $J_{6,5}$  6,5 Гц, H-6), 1,40; 1,70 (2 м, 8H, 4 -CH<sub>2</sub>-), 1,83 (с, 3H, CH<sub>3</sub>CO), 3,49 (дт, 1H,  $J_{\alpha,\beta}$  6,5 Гц,  $J_{\alpha,\alpha'}$  10 Гц, H<sub>α</sub>), 3,69 (т, 2H, J 7,5 Гц, CH<sub>2</sub>-N), 3,73 (дт, 1H,  $J_{\alpha,\beta}$  6,5 Гц, H<sub>α</sub>), 4,09 (дк, 1H, H-5), 4,91 (д, 1H,  $J_{1,2}$  2 Гц, H-1), 5,46 (т, 1H,  $J_{1,5}$  10 Гц, H-4), 5,51 (дд, 1H,  $J_{2,3}$  3,5 Гц, H-2), 5,62 (дд, 1H,  $J_{3,4}$  10 Гц, H-3). Спектр  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\delta$ , м.д.): 97,43 (C-1), 70,70 (C-2), 69,21 (C-3), 71,94 (C-4), 66,54 (C-5), 17,61 (C-6), 68,07 (C<sub>α</sub>), 37,73 (CH<sub>2</sub>-N), 25,59; 26,48; 28,38; 29,13 (4 -CH<sub>2</sub>-).

*6-Фталимидогексил-2,4-ди-О-бензоил-α-L-рамнопиранозид (XXII)*. К раствору 2,69 г (4,1 ммоль) ацетата (XXI) в 15 мл хлороформа прибавляли раствор, полученный смешением 25 мл метанола и 2,96 мл ацетилхлорида при 0° С, и оставляли на 15 ч при 5° С. К реакционной смеси прибавляли насыщенный раствор КНСО<sub>3</sub> до нейтральной реакции, упаривали, остаток суспендировали в хлороформе и промывали водой. Растворитель упаривали, остаток подвергали колоночной хроматографии. Выделено 1,82 г (75%) моногидроксильного производного (XXII), аморфное,  $[\alpha]_D^{+31,4^\circ}$  (с 1,5, хлороформ). Спектр  $^1\text{H-NMR}$  ( $\delta$ , м.д.): 1,32 (д, 3H,  $J_{6,5}$  6,5 Гц, H-6), 1,43; 1,70 (2 м, 8H, 4 -CH<sub>2</sub>-), 2,62 (д, 1H,  $J_{3,\text{OH}}$  8 Гц, OH), 3,48 (дт, 1H,  $J_{\alpha,\beta}$  6 Гц,  $J_{\alpha,\alpha'}$  10 Гц, H<sub>α</sub>), 3,70 (т, 2H, J 7,5 Гц, CH<sub>2</sub>-N), 3,73 (дт, 1H,  $J_{\alpha,\beta}$  6,5 Гц, H<sub>α</sub>), 4,05 (дк, 1H, H-5), 4,33 (дд, 1H,  $J_{3,4}$  10 Гц, H-3), 4,95 (д, 1H,  $J_{1,2}$  2 Гц, H-1), 5,28 (т, 1H,  $J_{1,5}$  10 Гц, H-4), 5,38 (дд, 1H,  $J_{2,3}$  3,5 Гц, H-2). Спектр  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\delta$ , м.д.): 97,45 (C-1), 73,52 (C-2), 69,04 (C-3), 75,68 (C-4), 66,33 (C-5), 17,49 (C-6), 68,24 (C<sub>α</sub>), 38,00 (CH<sub>2</sub>-N), 25,66; 26,72; 28,58; 29,35 (4 -CH<sub>2</sub>-).

*6-Фталимидогексил-2,4-ди-О-бензоил-3-О-(2,3,4-три-О-бензоил-α-L-рамнопиранозил)-α-L-рамнопиранозид (XXIV)*. Суспензию 500 мг (0,82 ммоль) моногидроксильного производного (XXII), 310 мг (1,22 ммоль) цианида ртути и 220 мг (0,61 ммоль) бромида ртути в 4 мл смеси бензол-хлористый метилен (2:1) лиофилизировали и сушили в вакууме. Бензобромрамнозу (XXIII), полученную из 1,22 ммоль тетрабензоата рамнозы, дважды лиофилизировали из 6 мл той же смеси. К суспензии соединения (XXII) и солей ртути в 8 мл ацетонитрила прибавляли раствор бромида (XXIII) в смеси 15 мл ацетонитрила и 4 мл хлористого метилена в атмосфере аргона как описано в работе [12]. Реакционную смесь перемешивали 15 ч, упаривали, разбавляли 150 мл хлороформа, промывали раствором КВг, водой и упаривали. Колоночной хроматографией остатка получено 870 мг (99%) дисахарида (XXIV), аморфный,  $[\alpha]_D^{+86,2^\circ}$  (с 1,2, хлороформ). Спектр  $^1\text{H-NMR}$  ( $\delta$ , м.д.): 1,16 (д, 3H,  $J_{6,5}$  6,5 Гц, H-6'), 1,36 (д, 3H,  $J_{6,5}$  6,5 Гц, H-6), 1,47; 1,70 (2 м, 8H, 4 -CH<sub>2</sub>-), 3,52 (дт, 1H,  $J_{\alpha,\beta}$  6 Гц,  $J_{\alpha,\alpha'}$  10 Гц, H<sub>α</sub>), 3,75 Гц, 3,72 (т, 2H, J 7,5 Гц, CH<sub>2</sub>-N), 3,74 (дт, 1H,  $J_{\alpha,\beta}$  6,5 Гц, H<sub>α</sub>), 4,07 (дк, 1H, H-5'), 4,14 (дк, 1H, H-5'), 4,51 (дд, 1H,  $J_{3,4}$  10 Гц, H-3'), 5,01 (д, 1H,  $J_{1,2}$  2 Гц, H-1'), 5,25 (д, 1H,  $J_{1,2}$  2 Гц, H-1'), 5,30 (дд, 1H,  $J_{2,3}$  3,5 Гц, H-2'), 5,49 (т, 1H,  $J_{1,5}$  10 Гц, H-4'), 5,52 (дд, 1H,  $J_{2,3}$  3,5 Гц, H-2). 5,60 (дд, 1H,  $J_{3,4}$  10 Гц, H-3'), 5,61 (т, 1H,  $J_{1,5}$  10 Гц, H-4). Спектр  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\delta$ , м.д.): 99,39 (C-1'), 97,34 (C-1), 76,59 (C-3), 73,24 (C-4), 72,63 (C-2), 71,40 (C-4'), 69,59; 70,82 (C-2', C-3'), 67,50 (C-5'), 66,85 (C-5), 17,47; 17,87 (C-6, C-6'), 68,26 (C<sub>α</sub>), 37,95 (CH<sub>2</sub>-N), 25,79; 26,68; 28,56; 29,39 (4 -CH<sub>2</sub>-).

*6-Фталимидогексил-2-О-(3-О-ацетил-2,4-ди-О-бензоил-α-L-рамнопиранозил)-3,4-ди-О-бензоил-α-L-рамнопиранозид (XXVI)*. К суспензии 102 мг (0,41 ммоль) 6-фталимидогексанола, 155 мг (0,62 ммоль) цианида ртути и 110 мг (0,31 ммоль) бромида ртути в 4 мл ацетонитрила прибавляли в атмосфере аргона раствор бромида (XXV) (получен из 0,62 ммоль соответствующего 1-О-ацетильного производного) в 6 мл ацетонитрила. Предварительная подготовка реагентов аналогична описанной в предыдущем эксперименте. Смесь перемешивали 16 ч, упаривали, остаток суспендировали в 150 мл хлороформа, промывали раствором КВг, водой и упаривали. После колоночной хроматографии выделено 380 мг (91,5%) дисахарида (XXVI), аморфный,  $[\alpha]_D^{+75^\circ}$  (с 1,3, хлороформ). Спектр  $^1\text{H-NMR}$  ( $\delta$ , м.д.): 1,33 (д, 3H,  $J_{6,5}$  6,5 Гц, H-6'), 1,39 (д, 3H,  $J_{6,5}$  6,5 Гц, H-6), 1,45; 1,70 (2 м, 8H, 4 -CH<sub>2</sub>-), 1,89 (с, 3H, CH<sub>3</sub>CO), 3,51 (дт, 1H,  $J_{\alpha,\beta}$  6,5 Гц,  $J_{\alpha,\alpha'}$  10 Гц, H<sub>α</sub>), 3,72 (т, 2H, J 7,5 Гц, CH<sub>2</sub>-N), 3,79 (дт, 1H,  $J_{\alpha,\beta}$  7 Гц, H<sub>α</sub>'), 4,11 (дк, 1H, H-5), 4,27 (дк, 1H, H-5'). 4,30 (дд, 1H,  $J_{2,3}$  3 Гц, H-2), 4,96 (д, 1H,  $J_{1,2}$  2 Гц, H-1), 5,10 (уш. с, 1H, H-1'), 5,49 (т, 1H,  $J_{1,5}=J_{4,5}=9,5$  Гц, H-4'), 5,63 (т, 1H,  $J_{1,5}=J_{4,5}=10$  Гц, H-4), 5,74-5,81 (м, 3H, H-3, H-2', H-3'). Спектр  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\delta$ , м.д.): 99,48 (C-1'), 98,71 (C-1), 76,79 (C-2), 72,01; 71,90 (C-4, C-4'), 71,21; 70,49; 68,95 (C-3, C-2', C-3'), 67,58 (C-5'), 66,92 (C-5), 17,72 (C-6, C-6'), 68,07 (C<sub>α</sub>), 37,93 (CH<sub>2</sub>-N), 25,77; 26,69; 28,58; 29,34 (4 -CH<sub>2</sub>-).

*6-Аминогексил-3-О-α-L-рамнопиранозил-α-L-рамнопиранозид (XVI)*. Раствор 330 мг (0,31 ммоль) дисахарида (XXIV) в смеси 10 мл этанола и 1 мл гидразингидрата кипятили 5 ч, упаривали, к остатку прибавляли 4 мл метанола и 2 мл 1 н. MeONa в метаноле. Смесь выдерживали 2 ч при 50° С, прибавляли уксусную кислоту до нейтральной реакции, упаривали. Остаток растворяли в 50 мл воды, промывали гексаном, водный раствор упаривали. Из остатка последовательной гель-хроматографией на колонках А и Б выделено 75 мг (60%) дисахарида (XVI), аморфный,  $[\alpha]_D^{-30,1^\circ}$  (с 1,2, вода). Спектр  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\delta$ , м.д.): 103,61 (C-1'), 100,89 (C-1), 79,40 (C-3), 73,27 (C-4'), 72,66 (C-4), 71,38 (C-2, C-2', C-3'), 70,31 (C-5'), 69,98 (C-5), 69,03 (C<sub>α</sub>), 40,69 (CH<sub>2</sub>-N), 26,15; 26,60; 27,87; 29,51 (4 -CH<sub>2</sub>-).

*6-Аминогексил-2-О-α-L-рамнопиранозил-α-L-рамнопиранозид (XVII)*. В аналогичных условиях из 300 мг (0,3 ммоль) защищенного производного (XXVI) получено 100 мг (91%) дисахарида (XVII), аморфный,  $[\alpha]_D^{-33,8^\circ}$  (с 1,2, вода). Спектр  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\delta$ , м.д.): 103,61 (C-1'), 99,60 (C-1), 80,08 (C-2), 73,25; 73,43 (C-4, C-4'),



71,35 (C-3, C-2', C-3'), 70,40 (C-5'), 70,00 (C-5), 69,15 (C<sub>α</sub>), 40,71 (CH<sub>2</sub>-N), 26,14; 26,61; 27,90; 29,47 (4 -CH<sub>2</sub>-), 17,91 (C-6, C-6').

6-Аминогексил-О-α-L-рамнопиранозил-(1→3)-О-α-L-рамнопиранозил-(1→2) - α - L-рамнопиранозид (XXVII). Аналогично из 160 мг (0,124 ммоль) защищенного производного (XIII) получено 51 мг (77%) трисахарида (XXVII), аморфный, [α]<sub>D</sub> -47,8° (с 1,2, вода). Спектр <sup>13</sup>C-ЯМР (δ, м.д.): 103,67 (C-1''), 103,40 (C-1'), 99,53 (C-1), 80,01 (C-2), 79,30 (C-3'), 73,46 (C-4), 73,24 (C-4''), 72,56 (C-4'), 71,38; 71,14 (C-3, C-2', C-2'', C-3'), 70,63; 70,41 (C-5', C-5''), 70,06 (C-5), 69,17 (C<sub>α</sub>), 40,70 (CH<sub>2</sub>-N), 26,18; 26,64; 27,93; 29,50 (4 -CH<sub>2</sub>-), 17,93 (C-6, C-6', C-6'').

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Цветков Ю. Е., Бакиновский Л. В., Кочетков Н. К. // Биоорг. химия. 1986. Т. 12. № 8. С. 1144-1146.
2. Цветков Ю. Е., Бухаров А. В., Бакиновский Л. В., Кочетков Н. К. // Биоорг. химия. 1988. Т. 14. № 3. С. 371-377.
3. Pritchard D. G., Coligan J. E., Geeckle J. M., Evanochko W. T. // Carbohydr. Res. 1982. V. 110. P. 315-319.
4. Байрамова Н. Э., Цветков Ю. Е., Бакиновский Л. В., Кочетков Н. К. // Изв. АН СССР. Сер. хим. 1985. № 5. С. 1151-1156.
5. Kochetkov N. K., Vyramova N. E., Tsvetkov Yu. E., Baskinowsky L. V. // Tetrahedron. 1985. V. 41. № 16. P. 3363-3375.
6. Vyramova N. E., Ovchinnikov M. V., Baskinowsky L. V., Kochetkov N. K. // Carbohydr. Res. 1983. V. 124. P. C8-C11.
7. Wessel H.-P., Bundle D. R. // Carbohydr. Res. 1983. V. 124. P. 301-311.
8. Веганели В. П., Литвак М. М., Бакиновский Л. В., Кочетков Н. К. // Изв. АН СССР. Сер. хим. 1985. № 5. С. 1172-1177.
9. Бакиновский Л. В., Оселдчик Г. А., Кочетков Н. К. // Изв. АН СССР. Сер. хим. 1981. № 6. С. 1387-1390.
10. Кочетков Н. К., Отт А. Я. // Изв. АН СССР. Сер. хим. 1984. № 10. С. 2358-2363.
11. Бакиновский Л. В., Цветков Ю. Е., Овчинников М. В., Байрамова Н. Э., Кочетков Н. К. // Биоорг. химия. 1985. Т. 11. № 1. С. 66-76.
12. Байрамова Н. Э., Бакиновский Л. В., Кочетков Н. К. // Изв. АН СССР. Сер. хим. 1985. № 5. С. 1140-1145.

Получена в редакцию  
17.V.1988

### SYNTHESIS OF 6-AMINOHEXYL GLYCOSIDES OF THE GROUP A-VARIANT STREPTOCOCCAL POLYSACCHARIDE AND OF ITS FRAGMENTS

TSVETKOV Yu. E., BUKHAROV A. V., BASKINOWSKY L. V.,  
KOCHEKOV N. K.

*Institute of Organic Chemistry, Academy of Sciences of the USSR, Moscow*

Polycondensation of 4-O-benzoyl-1,2-O-(1-cyanoethylidene)-3-O-(3,4-di-O-benzoyl-2-O-trityl-α-L-rhamnopyranosyl)-β-L-rhamnopyranose in the presence of 6-phthalimido-hexyl 3,4-di-O-benzoyl-2-O-trityl-α-L-rhamnopyranoside affords, after deprotection, the polysaccharide built up of the repeating disaccharide units-2)Rha(α1→3)Rha(α1→ and containing 6-aminohexyl residue at the reducing end. This polysaccharide possesses the structure of the group A-variant streptococcal polysaccharide. Synthesis of 6-aminohexyl glycosides of 2- and 3-O-α-L-rhamnopyranosyl-α-L-rhamnopyranoses, which correspond to the repeating units of the above polysaccharide, is described.