

Химические сдвиги ^{13}C -ЯМР (δ , CDCl_3) * *O*-бензилированных производных *D*-маннозы (III)–(V), (XVII) и (XVIII)

Атом	(III) [16]	(IV)		(V) **	(XVII) **	(XVIII) **
		α	β			
C1	99,0	92,7	93,9	93,7 д	98,4	98,5
C2	74,9	74,7	76,3	75,5 д	75,0	78,6
C3	80,2	79,8	83,0	79,7	80,3	71,8
C4	75,0	75,3	74,7	74,9	75,2	76,6
C5	71,8	71,6	73,5	73,3	72,2	71,4
C6	69,5	69,8	69,3	69,6	62,4	62,4
OCH ₃	54,6	—	—	—	54,9	54,8
OCH ₂ Ph	2	72,6	72,7	72,7	72,7	73,3
	3	72,1	72,2	72,1	72,3	—
	4	74,9	75,3	75,3	75,0	74,6
	6	73,3	73,3	73,3	73,5	—
C ₆ H ₅	127,4–128,5; 138,4; 138,6	127,6–128,5; 138,2; 138,5		127,5–128,4; 138,9	127,6–128,4; 138,4; 138,6	127,1–128,7; 137,9; 138,6

* Отнесение сигналов проведено путем сравнительного анализа со спектрами частично бензилированных производных α -*D*-маннопиранозидов [17, 18]. Для соединения (IVa) отнесение подтверждено методом двойного гетероядерного резонанса.

** В спектре соединения (V) имелись также сигналы Et₃N (8,6 и 45,6).

** Соединение (XVII) — метил-2,3,4-три-*O*-бензил- α -*D*-маннопиранозид [19].

** Соединение (XVIII) — метил-2,4-ди-*O*-бензил- α -*D*-маннопиранозид [20].

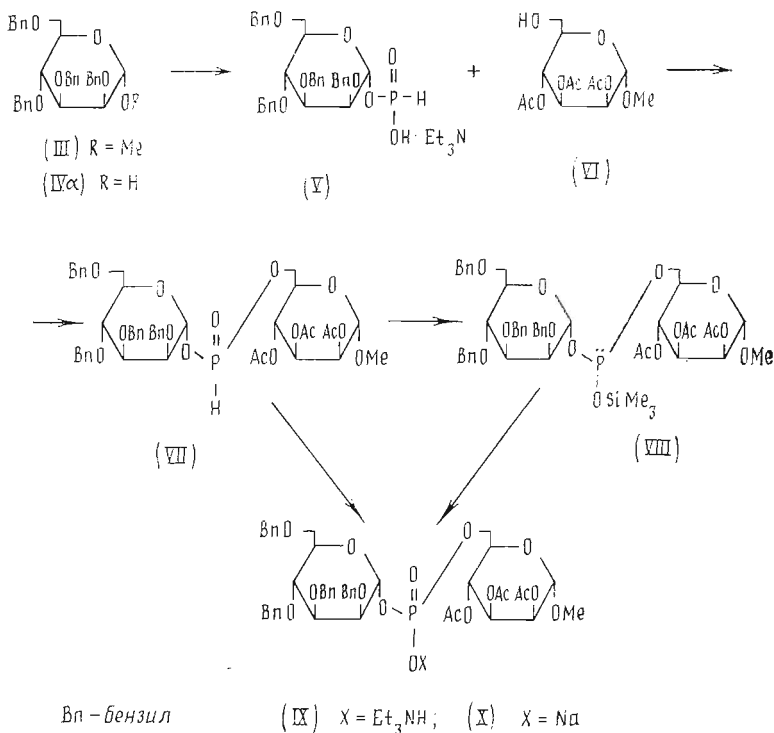
Часть описываемого материала была опубликована в виде предварительных сообщений [8–10]. В литературе имеются данные о синтезе соединения (I) с помощью фосфатного диэфирного [11] и фосфитного триэфирного [12] методов.

Водородфосфонатный подход был предложен в 1985–1986 гг. как эффективный метод получения олигонуклеотидов [13, 14]. Применение его в синтезе гликозилфосфосахаров (B) предполагало получение производного гликозилводородфосфоната (A), его конденсацию с соответствующим моногидроксильным углеводным компонентом, окисление образующегося диэфира (B) водородфосфоновой (фосфористой) кислоты до фосфата и удаление защитных групп.

В синтезе фосфодиэфира (I) в качестве *N*-фосфонатного компонента был использован *O*-защищенный маннозилводородфосфонат (V), спиртовым компонентом являлось соединение (VI) [15] (см. схему 1). Производное (V) получали обработкой тетра-*O*-бензил-*D*-маннозы (IV) * [16] триимидазолидофосфитом (образуется *in situ* из PCl_3 , имидазола и триэтиламина) в ацетонитриде с последующим гидролизом имидазолидных групп [14]. Соединение выделяли с выходом, близким к количественному, и далее использовали без дополнительной очистки. Строение *N*-фосфоната (V) согласовалось с данными спектров ЯМР (см. табл. 1 и «Экспериментальную часть»). Наличие водородфосфонатной группы подтверждалось положением резонанса атома фосфора δ 1,56 в спектре ^{31}P -ЯМР и присутствием в спектре ^1H -ЯМР сигнала связанного с ним протона с характерной константой $^1J_{\text{H,P}}$ 640 Гц. Кроме этого, наблюдалась повышенная мультиплетность сигналов C1, C2 и H1, связанная с их дополнительным расщеплением на атоме P. α -Конфигурация при C1 следовала из величины $^1J_{\text{C}_1,\text{H}_1}$ 171 Гц, а также из положения резонанса C3, близкого к химическому сдвигу этого атома в α -производных (III) [16] и (IVa). Следует отметить, что в спектре ^{31}P -ЯМР наряду с основным (δ 1,56) наблюдался также минорный сигнал δ 2,14 (~10% от основного), который предположительно можно объяснить наличием примеси другой ионной формы гликозил-*N*-фосфоната (V) (H^+ или PuH^+) или его β -аномера.

* Судя по данным спектра ^{13}C -ЯМР, это соединение является смесью α - и β -аномеров в соотношении ~10:1.

Схема 1



Конденсацию соединений (V) и (VI) проводили в абсолютном пиридине в присутствии различных конденсирующих реагентов. В этом качестве были изучены дифенилхлорфосфат, триметилацетилхлорид и 3-нитро-1-(2,4,6-триизопропилбензолсульфонил)-1,2,4-триазол [21]. Анализ реакционных смесей методом ТСХ через 20 мин показал наличие во всех случаях основного продукта конденсации, поглощающего в УФ-части спектра и проявляющегося реагентом на фосфор, а также присутствие следовых количеств исходных (V) и (VI). После выделения колоночной хроматографией на SiO₂ и исследования методами спектроскопии ЯМР продукту конденсации была приписана структура диэфира (VII) водородфосфоновой (фосфористой) кислоты. Это соединение являлось смесью диастереомеров по атому фосфора, о чем свидетельствовал спектр ³¹P-ЯМР, содержавший два сигнала, лежавших в области, характерной для дисубstitированных водородфосфонатов: δ 6,81 и 7,46 (соотношение ~2:1). В спектрах ¹H- и ¹³C-ЯМР также наблюдали двойные сигналы для ряда атомов (см. «Экспериментальную часть» и табл. 2). Наиболее характеристичными для структуры (VII) были сигналы фосфонатного атома водорода (δ_{HP} 6,92 и 6,98; ¹J_{H,P} 726 и 720 Гц), а также сигналы H1', C1', C2', C5 и C6, дополнительно расщепленные за счет спин-спинового взаимодействия с атомом фосфора.

Выход выделенного производного (VII) был относительно невысок — 49% в реакции с (PhO)₂POCl и 30% в реакции с Me₃CCOCl, что, по-видимому, было следствием частичного расщепления при очистке на кислотном сорбенте. Один из продуктов такого расщепления — 1-ОН-производное (IV) — был выделен в значительных количествах, хотя в реакционной смеси он отсутствовал. В дальнейшем, чтобы избежать деструкции продукта конденсации при хроматографии, его окисляли без выделения непосредственно в реакционной смеси до фосфодиэфира (IX), более устойчивого к кислотным воздействиям.

В специальном эксперименте контроль за протеканием конденсации и окисления проводили методом ³¹P-ЯМР. Через 2–3 мин после добавления 2,5 экв. Me₃CCOCl к раствору эквимольных количеств (V) и (VI) в пиридине сигнал исходного Н-фосфоната (δ 0,39) полностью превращался в сигналы диэфира водородфосфоновой кислоты (VII) (δ 7,58 и 8,53, соот-

Химические сдвиги ^{13}C -ЯМР (δ) и некоторые КССВ (Гц) гликозилфосфосахаров (VII) *, (IX) *, (XVI) **, (I) ** и (II) **

Атом	(VII) **	(IX) **	(XVI) **	(I)	(II)
C1	98,7	98,5	100,6	102,1	100,4
($^1J_{\text{C,H}}$)		(168,5)	(175,7)	(168,5)	
C2	69,6	69,8	77,9	71,8	79,3
C3	69,1	69,5	70,8 ^{5*}	71,1	70,9
C4	66,0; 66,2	66,9	68,7	67,7	67,4
C5	69,2 д; 69,3 д	69,8 д	71,4 д	72,7 д	72,6 д
($^3J_{\text{C,P}}$)			(7,3)	(7,3)	(7,3)
C6	64,4 д; 64,5 д	65,3 д	66,5 д	66,0 д	65,7 д
($^2J_{\text{C,P}}$)			(4,9)	(4,9)	(4,9)
C1'	95,4 д; 95,8 д	94,1 д	95,6 д	97,4 д	97,2 д
($^1J_{\text{C,H}}$)		(168,5)	(173,3)	(173,3)	
($^2J_{\text{C,P}}$)	(5,8)	(5,4)	(7,3)	(4,9)	(4,9)
C2'	75,2 д	75,4 д	77,1 д	71,8 д	71,5 д
($^3J_{\text{C,P}}$)			(7,3)	(7,3)	(7,3)
C3'	79,1	79,7	80,8	71,1	71,1
C4'	74,5	74,8	75,7	67,7	67,4
C5'	74,3; 74,4	72,4	74,5	75,0	74,8
C6'	69,1	69,5	70,3	62,1	62,1
C1''			100,6		103,2
($^1J_{\text{C,H}}$)			(175,7)		
C2''			72,1		71,3
C3''			70,4		71,1
C4''			67,7		68,0
C5''			70,7 ^{5*}		74,3
C6''			63,8		61,8
OCH ₃	55,6	55,3	55,8	56,0	55,9
OCH ₂ Ph	2	73,1	72,6	73,7	
	3	72,5	72,0	72,8	
	4	75,2	75,0	75,8	
	6	73,6	73,3	74,6	

* В CDCl₃. ** CD₃OD. *** В D₂O. **** В спектрах соединений (VII), (IX) и (XVI) имелись также сигналы OCH₃-групп (20,4—20,8 и 169,9—171,3) и C₆H₅-групп (127,6—129,4 и 138,4—140), в спектрах соединений (IX) и (XVI) — сигналы Et₃N (45,8; 48,0 и 8,6; 9,3).
^{5*} Отнесение может быть обратным.

ношение 20 : 1, $^1J_{\text{P,H}}$ 716 Гц). Добавление окислителя (2 экв. I₂ в водном пиридине в присутствии 5 экв. Et₃N) приводило через 5 мин к полному исчезновению предыдущих сигналов и появлению единственного сигнала (δ -2,80) фосфодиэфира (IX).

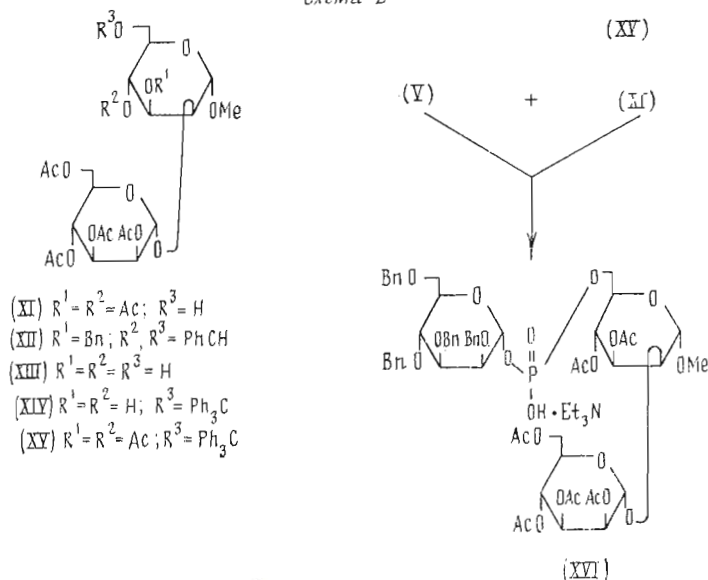
Другой исследованный вариант окисления предусматривал предварительное силилирование продукта конденсации (VII) с образованием бисуглеводного триметилсилилового триэфира (VIII). Действительно, добавление к реакционной смеси Me₃SiCl (5 экв.) в присутствии Et₃N приводило к немедленному исчезновению сигналов фосфодиэфира (VII) и появлению сигналов δ 128,62 и 131,82 (~1 : 1), характерных для триэфиров фосфористой кислоты, несущих O-силильный заместитель [22]. Последующее окисление иодом также мгновенно приводило к уже знакомому спектру фосфодиэфира (IX). Эти результаты показывают, что превращения на стадиях конденсации и окисления протекают быстро и с высокими выходами.

Препаративная конденсация соединений (V) и (VI) в присутствии Me₃CCl с последующим окислением иодом и выделением продукта колоночной хроматографией на SiO₂ привела к защищенному фосфодиэфиру (IX) с выходом 85%. Удаление защитных групп осуществляли последовательным гидрогенолизом над 10% Pd/C в метаноле с тетрагидрофураном и деацетилизацией обработкой Et₃N в водном метаноле. Полнота расщепления бензиловых эфиров достигалась лишь при использовании в реакции гидрирования натриевой соли диэфира фосфорной кислоты (X). Продукт деблокирования — целевой гликозилфосфосахар (I) — выделяли гель-хроматографией на фрактогеле TSK HW-40(S) в воде с вы-

ходом 93%. Строение фосфодиэфиров (I) и (IX) подтверждалось путем детального анализа спектров ЯМР (см. ниже).

При использовании 3-нитро-1-(2,4,6-триизопропилбензолсульфонил)-1,2,4-триазола как конденсирующего реагента в препаративном синтезе соединения (I) продукт конденсации и окисления, фосфодиэфир (IX), не был получен в чистом виде из-за присутствия в смеси вещества неуглеводной природы с близкой хроматографической подвижностью (по-видимому, соли триизопропилбензолсульфокислоты). От этой примеси удалось освободиться только после удаления защитных групп при выделении свободного фосфодиэфира (I), суммарный выход которого составил 58%.

Схема 2



В синтезе второго целевого продукта — разветвленного фосфодиэфира (II) — компонентами конденсации являлись уже упомянутый гликозилводородфосфонат (V) и гекса-О-ацетат маннобиозида (XI), содержавший гидроксильную группу при С6 (схема 2). Исходным для получения последнего служило дисахаридное производное (XII), комбинация защитных групп в котором обеспечивала селективное освобождение этого гидроксильного. Соединение (XII) получали гликозильрованием метил-3-О-бензил-4,6-О-бензилиден- α -D-маннопиранозида [23] ацетобромманнозой в ацетонитриле в присутствии $\text{Hg}(\text{CN})_2$ с выходом 80%. Дальнейший гидролиз над 10% Pd/C в этаноле с AcOH приводил к триолу (XIII) (72%), который затем избирательно защищали по О6 действием трифенилхлорметана в пиридине и ацетилювали. В результате был выделен 6-О-третилловый эфир гекса-О-ацетата дисахарид (XV) (81%). (Промежуточное соединение (XIV) получали в специальном эксперименте.) Мягкий метанолиз дисахарид (XV) действием перхлората пиридиния [15] давал моногидроксильное производное маннобиозида (XI) с выходом 87%.

На всех стадиях строение дисахаридных интермедиатов надежно подтверждалось данными ^{13}C - и ^1H -ЯМР (см. табл. 3 и «Экспериментальную часть»). В частности, тип и конфигурация вновь созданной гликозидной связи следовали из низкопольного положения резонанса С2 и величины $^1J_{\text{C}1', \text{H}1'}$, характерных для экваториального положения аномерного протона соответственно. Наличие или отсутствие защитной группы при О6 характеризуется химическими сдвигами С5 и С6 по сравнению с сигналами С5' и С6' для всей серии соединений (XI) — (XVI).

Конденсацию Н-фосфоната (V) и производного (XI) выполняли в пиридине в присутствии триметилацетилхлорида с последующим окислением продукта иодом. В результате был получен фосфодиэфир (XVI)

Химические сдвиги ^{13}C -ЯМР (δ , CDCl_3) и некоторые КССВ (Гц) дисахаридных производных (XI)–(XV)

Атом	(XII) *	(XIII)	(XIV)	(XV)	(XI)
C1	100,8	99,6	100,0 **	99,4 **	99,4
($^1J_{\text{C,H}}$)	(170,9)	(170,9)	(170,9)	(170,9)	(168,5)
C2	76,8	80,1	80,6	77,6	76,9
C3	75,7	70,9	71,2	70,1	70,3
C4	79,2	67,8	68,9	66,7	66,8
C5	64,0	72,5	71,3	70,5	70,8
C6	68,8	62,0	62,9	62,7	61,5
C1'	99,6	99,6	99,3 **	99,0 **	99,1
($^1J_{\text{C,H}}$)	(173,3)	(170,9)	(170,9)	(170,9)	(168,5)
C2'	69,2 **	69,3	69,6	69,5	69,8
C3'	69,1	68,8	69,1	68,8	68,7
C4'	66,6	66,3	65,9	66,2	66,6
C5'	69,3 **	69,3	69,3	69,1	69,2
C6'	62,8	63,2	63,8	62,9	62,9
OCH_3	54,8	55,0	55,0	55,0	55,1
OCCCH_3	20,6	20,7–20,9	20,3–20,9	20,4–20,9	20,6
OCCCH_3	169,4–170,4	170,1–171,3	169,9; 170,1	169,0–170,5	169,9–170,7
C_6H_5	126,2–128,8	—	127,1–128,9	127,0–128,8	—
	137,7; 138,6	—	144,2	143,9	—
CPh_3	—	—	86,8	86,7	—

* В спектре соединения (XII) также присутствовали сигналы атомов CPh (101,6, $^1J_{\text{C,H}}$ 163,6) и CH_2Ph (73,3).

** Отношение может быть обратным.

(78%), удаление защитных групп с которого проводили путем гидрирования и омыления, как описано выше при получении соединения (I). Образующийся разветвленный гликозилфосфосахар (II) выделяли гелехроматографией с выходом 94%.

Анализ строения синтезированных гликозилфосфосахаров — как защищенных (IX), (XVI), так и свободных (I), (II) — был проведен путем сравнительного изучения данных спектроскопии ЯМР (см. табл. 2 и «Экспериментальная часть»). Сигналы в спектрах ^{31}P -ЯМР лежали в области, характерной для положений резонанса диэфиров фосфорной кислоты данной природы [2, 12, 24]. Наличие фосфодиэфирной связи между C1'- и C6-атомами подтверждалось значениями химических сдвигов и дублетной формой сигналов C1', C2', C5 и C6 в спектрах ^{13}C -ЯМР, связанной с их дополнительным расщеплением на атоме фосфора. Аналогичное расщепление сигналов H1' и H6 наблюдалось в спектрах ^1H -ЯМР соединений (I) и (II). α -Конфигурация всех маннозных звеньев следовала из положений резонанса C1, C3 и C5 (с учетом эффектов бензилирования и ацетилирования для защищенных производных) и величин $^1J_{\text{C,H}}$, близких к 170 Гц.

Полученные результаты показывают, что водородфосфонатный подход к синтезу гликозилфосфосахаров весьма эффективен благодаря небольшому числу стадий, быстрой протеканию каждой из них и высокому суммарному выходу целевых продуктов. По нашим предварительным данным, этот метод может быть успешно применен для получения 1→2-, 1→3- и 1→4-связанных гликозилфосфосахаров [25, 26], а также фосфодиэфиров, содержащих гликозилфосфатный и 2-ацетиамидо-2-дезоксиглюкозилфосфатный фрагменты [27].

Экспериментальная часть

Оптическое вращение измеряли на поляриметре Jasco DIP-360. Спектры ^1H -, $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ - и $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ -ЯМР сняты на приборах Bruker WM-250 (250 МГц по ^1H) и Bruker AM-300 (75 МГц по ^{13}C , 121,5 МГц по ^{31}P). Химические сдвиги выражены в шкале δ , КССВ — в Гц.

Растворы упаривали в вакууме при температуре не выше 40° С. Аналитическую ТСХ выполняли на пластинках с закрепленным слоем SiO₂ Kieselgel 60 и Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck), обнаруживая вещества 25% H₂SO₄ при нагревании и по УФ-поглощению. Обнаружение фосфорсодержащих соединений описано в работе [28]. Системы для ТСХ: хлороформ — метанол, 8:2 (А), 95:5 (Б), хлороформ — ацетон, 9:1 (В), бензол — ацетон, 85:15 (Г), дихлорметан — метанол, 9:1 (Д), изопропиловый спирт — вода, 5:1 (Е), бензол — эфир, 1:1 (Ж), 7:3 (З). Колоночную хроматографию (КХ) проводили на SiO₂ TLC Kieselgel 60H (Merck) под давлением 2 атм. Соединения (I) и (II) выделяли гель-хроматографией на колонке (1,5×74 см; V₀=40 мл) с фразогелем TSK HW-40(S) (Merck) в деионизованной воде (скорость элюирования 1 мл/мин) при рефрактометрическом детектировании. Пиридин готовили последовательной перегонкой над NaOH, P₂O₅, CaH₂ и 1-нафтилизоцианатом.

2,3,4,6-Тетра-О-бензил-α-D-маннопиранозилводородфосфонат, триэтиламмониевая соль (V). К раствору 194 мг (2,86 ммоль) имидазола в 5 мл CH₃CN при перемешивании и охлаждении ледяной водой прибавляли 0,076 мл (0,866 ммоль) PCl₃ и 0,42 мл (3,02 ммоль) Et₃N; через 15 мин прибавляли по каплям раствор 108 мг (0,2 ммоль) соединения (IV) в 5 мл ацетонитрила в течение 30 мин. После добавления производного (IV) [16] охлаждение прекращали и к смеси через 5–10 мин при 20° С прибавляли 1,4 мл 1 М ТЕАВ (рН 8). Раствор перемешивали 15 мин, упаривали, полученный сироп упаривали со смесью пиридин — Et₃N (4:1). Остаток растворяли в CHCl₃ (70 мл), раствор промывали ледяной водой (2×30 мл), охлажденным 1 М ТЕАВ (2×30 мл), высушивали и упаривали. Полученный хроматографически однородный Н-фосфонат (V) высушивали в вакууме (0,5–1 мм рт. ст.) над NaOH. Выход соединения (V) 140 мг (100%, сироп), [α]_D²⁰ +13,9° (с 2, хлороформ), R_f 0,35 (А), 0(В). Спектр ¹H-ЯМР (C₆D₆): 0,73 (т, 9H, CH₃CH₂, J 7,2), 2,27 (к, 6H, CH₃CH₂), 3,68 (дд, 1H, H_{6a}, J_{5,6a} 1,5, J_{6a,6b} 11,1), 3,78 (дд, 1H, H_{6b}, J_{5,6b} 4,1), 4,04 (дд, 1H, H₂, J_{2,3} 2,5), 4,18–4,32 (м, 3H, H₃, H₄, H₅), 4,35 и 4,50 (2д, 2H, CH₂Ph, J 12,0), 4,41 (с, 2H, CH₂Ph), 4,51 и 4,92 (2д, 2H, CH₂Ph, J 11,2), 4,63 и 4,69 (2д, 2H, CH₂Ph, J 12,2), 6,15 (дд, 1H, H₁, J_{1,2} 1,85, J_{1,p} 8,1), 6,92–7,38 (м, 20H, C₆H₅), 7,40 (д, 1H, HP, J_{H,p} 640). Спектр ¹³C-ЯМР — см. табл. 1. Спектр ³¹P-ЯМР (CDCl₃): 1,56; 2,14 (~10:1, см. Теор. часть).

Метил-6-О-(2,3,4,6-тетра-О-бензил-α-D-маннопиранозилводородфосфоно)-2,3,4-три-О-ацетил-α-D-маннопиранозид (VII). Смесь 70 мг (0,10 ммоль) Н-фосфоната (V) и 30 мг (0,09 ммоль) триацетата (VI) упаривали с пиридином (3×2 мл). К раствору остатка в 0,5 мл пиридина при перемешивании прибавляли 0,062 мл (0,30 ммоль) дифенилхлорфосфата. Смесь перемешивали 20 мин при 20° С, разбавляли 0,2 мл 1 М ТЕАВ, упаривали, от остатка отгоняли толуол. Методом КХ в бензоле с эфиром (1:1) выделяли соединение (IV) (элюировался первым, идентифицирован сравнением с заведомым образцом) и целевой продукт (VII), выход 40 мг (49%, сироп), [α]_D²⁰ +55,4° (с 1, хлороформ), R_f 0,65(В), 0,34(Г). Спектр ¹H-ЯМР (CDCl₃): 1,95–2,10 (6с, 9H, CH₃CO), 3,30 и 3,38 (2с, 3H, CH₃O), 3,64–3,77 (м, 2H, H_{6a'}, H_{6b'}, J_{6a',6b'} 10,4), 3,80–3,97 (м, 4H, H_{2'}, H_{3'}, H_{4'}, H_{5'}), 4,02–4,32 (м, 3H, H₅, H_{6a}, H_{6b}), 4,50 и 4,67 (2д, 2H, CH₂Ph, J 9,0), 4,52 и 4,89 (2д, 2H, CH₂Ph, J 10,8), 4,60 и 4,61 (2с, 2H, CH₂Ph), 4,66 (д, 1H, H₁, J_{1,2} 1,8), 4,74 и 4,76 (2с, 2H, CH₂Ph), 5,21 (дд, 1H, H₂, J_{2,3} 3,1), 5,26 (т, 1H, H₄, J_{3,4}=J_{4,5}=9,1), 5,32 и 5,39 (2дд, 1H, H₃), 5,83 и 5,94 (2дд, 1H, H_{1'}, J_{1',2'} 1,85 и 1,5, J_{1',p} 6,5 и 7,3), 6,92 и 6,98 (2д, 1H, HP, J_{H,p} 726 и 720), 7,12–7,40 (м, 20H, C₆H₅). Спектр ¹³C-ЯМР — см. табл. 2. Спектр ³¹P-ЯМР (CDCl₃): 6,81; 7,46 (~2:1).

Метил-6-О-(2,3,4,6-тетра-О-бензил-α-D-маннопиранозилфосфо)-2,3,4-три-О-ацетил-α-D-маннопиранозид, триэтиламмониевая соль (IX). От смеси 85 мг (0,12 ммоль) Н-фосфоната (V) и 39 мг (0,12 ммоль) триацетата (VI) отгоняли пиридин (3×2 мл). К раствору остатка в 0,5 мл пиридина при перемешивании прибавляли 0,034 мл (0,275 ммоль) три-

метилацетилхлорида; через 6 мин при 20° С прибавляли 0,077 мг (0,55 ммоль) Et₃N и раствор 56 мг (0,22 ммоль) иода в 1 мл смеси пиридин — H₂O (98 : 2). Через 10 мин смесь выливали на лед, разбавляли хлороформом (50 мл), промывали 1 М Na₂S₂O₃ (2×25 мл), 1М ТЕАВ (2×25 мл), высушивали и упаривали. Из остатка методом КХ в дихлорметане с метанолом (3 → 16% MeOH) выделили 104 мг соединения (IX) (84,7%, сироп), $[\alpha]_D^{26} +23,4^\circ$ (с 1, хлороформ), R_f 0,50(А), 0(Г), 0,33(Д). Данные ¹H-ЯМР (CDCl₃): 5,80 (дд, 1H, H1', J_{1',2'} 2,0, J_{1',р} 7.1). Спектр ¹³C-ЯМР — см. табл. 2. Спектр ³¹P-ЯМР (CDCl₃): -1,50.

Метил-6-О-α-D-маннопиранозилфосфо-α-D-маннопиранозид, натриевая соль (I). а) Раствор 70 мг фосфодиэфира (IX) в 10 мл смеси метанол — диоксан (1 : 1) обрабатывали катионитом Chelex 100 (Na⁺) 2 ч при 20° С. Катионит отфильтровывали, фильтрат упаривали, остаток — Na-соль (X) — растворяли в 20 мл MeOH с тетрагидрофураном (1 : 1) и гидрировали над 10% Pd/C 5 ч при 20° С. К смеси добавляли 0,1 мл пиридина, катализатор отфильтровывали, фильтрат упаривали. Полученный сироп растворяли в 4 мл смеси MeOH — H₂O — Et₃N (2 : 1 : 1), выдерживали 16 ч при 1° С и упаривали. Из остатка гель-хроматографией выделяли 29 мг гликозилфосфосахара (I) (92,5%, объем выхода от 40 до 55 мл), $[\alpha]_D^{20} +52^\circ$ (с 1, вода), R_f 0,27(Е). Спектр ¹H-ЯМР (D₂O): 3,32 (с, 3H, CH₃O), 3,47—3,81 (м, 7H, H3, H4, H4', H5, H5', H6a, H6b'), 3,82 (дд, 1H, H3', J_{3',4'} 9,2), 3,84 (дд, 1H, H2, J_{2,3} 2,8), 3,92 (дд, 1H, H2', J_{2',3'} 3,3), 3,99 (ддд, 1H, H6a, J_{5,6a} 4,5, J_{6a,6b} 11,5, J_{6a,р} 6,6), 4,08 (ддд, 1H, H6b, J_{5,6b} 1,6, J_{6b,р} 5,7), 4,67 (д, 1H, H1, J_{1,2} 1,6), 5,36 (дд, 1H, H1', J_{1',2'} 1,8, J_{1',р} 7,6). Спектр ¹³C-ЯМР — см. табл. 2. Спектр ³¹P-ЯМР (D₂O): -0,87.

б) Конденсацию соединений (V) (80 мг, 0,11 ммоль) и (VI) (65 мг, 0,20 ммоль) в присутствии 3-нитро-1-(2,4,6-триизопропилбензолсульфонил)-1,2,4-триазола (126 мг, 0,33 ммоль) и последующее окисление проводили по методике, описанной для синтеза фосфодиэфира (IX). Методом КХ выделяли 190 мг смеси (IX) (теоретический выход 116 мг) и вещества неуглеводной природы. После гидрогенолиза и дезацетилирования полученного продукта (см. «а») гель-хроматографией выделяли 30 мг соединения (I) (общий выход 57,7%).

Метил-3-О-бензил-4,6-О-бензилиден-2-О-(2,3,4,6-тетра-О-ацетил-α-D-маннопиранозил)-α-D-маннопиранозид (XII). К 280 мг (0,75 ммоль) метил-3-О-бензил-4,6-О-бензилиден-α-D-маннопиранозид [23] и 506 мг (2 ммоль) Hg(CN)₂ в 5 мл ацетонитрила при перемешивании по каплям прибавляли раствор 820 мг (2 ммоль) 2,3,4,6-тетра-О-ацетил-α-D-маннопиранозилбромид в 10 мл CH₃CN в течение 1 ч. Смесь перемешивали 16 ч при 20° С, упаривали, остаток растворяли в хлороформе и фильтровали от солей ртути. Фильтрат промывали (по 2 раза) насыщенным раствором NaHCO₃, 1 М KBr, водой, высушивали и упаривали. Из остатка методом КХ в бензоле с эфиром (8 : 2) выделили 420 мг производного (XII) (80%, пена), $[\alpha]_D^{20} +42,8^\circ$ (с 1, хлороформ), R_f 0,65(Ж). Спектр ¹H-ЯМР (CDCl₃): 2,00; 2,04; 2,10; 2,12 (4с, 12H, CH₃CO), 3,36 (с, 3H, CH₃O), 3,78 (дт, 1H, H5, J_{5,6a} 10, J_{5,6b} 4,2), 3,91 (т, 1H, H4, J_{4,5} 10), 3,94 (дд, 1H, H3, J_{3,4} 10), 4,03 (дд, 1H, H2, J_{2,3} 3,3), 4,07 (ддд, 1H, H5', J_{5',6a'} 6,2, J_{5',6b'} 2,6), 4,11—4,38 (м, 4H, H6a, H6b, H6a', H6b'), 4,61 и 4,86 (дд, 2H, CH₂Ph, J 12), 4,71 (д, 1H, H1, J_{1,2} 1,5), 5,14 (д, 1H, H1', J_{1',2'} 1,7), 5,24 (т, 1H, H4', J_{4',5'} 9,5), 5,41 (дд, 1H, H3', J_{3',4'} 9,5), 5,47 (дд, 1H, H2', J_{2',3'} 3,2), 5,69 (с, 1H, CHPh), 7,22—7,52 (м, 10H, C₆H₅). Спектр ¹³C-ЯМР — см. табл. 3. Найдено, %: С 59,58, Н 6,29, C₃₅H₄₂O₁₅. Вычислено, %: С 59,82, Н 6,02.

Метил-2-О-(2,3,4,6-тетра-О-ацетил-α-D-маннопиранозил)-α-D-маннопиранозид (XIII). Гидрировали 340 мг (XII) в 30 мл смеси EtOH — AcOH (5 : 1) над 10% Pd/C 8 ч при 40° С. Катализатор отфильтровывали, фильтрат упаривали. Из остатка методом КХ в эфире с метанолом (95 : 5) выделили 180 мг триола (XIII) (72%, пена), R_f 0,2(Б). Спектр ¹H-ЯМР (CDCl₃): 1,98; 2,05; 2,11; 2,13 (4с, 12H, CH₃CO), 3,36 (с, 3H, CH₃O),

3,53 (м, 1Н, Н5), 3,74 (дд, 1Н, Н6а, $J_{5,6a}$ 7,0, $J_{6a,6b}$ 9,7), 3,78—3,93 (м, 3Н, Н2, Н3, Н4), 4,05—4,32 (м, 4Н, Н5', Н6b, Н6a', Н6b'), 4,90 (д, 1Н, Н1, $J_{1,2}$ 1,1), 5,02 (д, 1Н, Н1', $J_{1',2'}$ 1,8), 5,17 (т, 1Н, Н4', $J_{4',5'}$ 9,8), 5,30 (дд, 1Н, Н3', $J_{3',4'}$ 9,8), 5,39 (дд, 1Н, Н2', $J_{2',3'}$ 3,1). Спектр ^{13}C -ЯМР — см. табл. 3.

Метил-2-О-(2,3,4,6-тетра - О-ацетил - α -D-маннопиранозил) - 6-О-трифенил- α -D-маннопиранозид (XIV). Раствор 280 мг неочищенного (XIII) (из 350 мг (0,5 ммоль) (XII) и 200 мг (0,7 ммоль) трифенилхлорметана в 5 мл пиридина нагревали 1 ч при 100° С. После добавления еще 200 мг трифенилхлорметана смесь выдерживали 4 сут при 20° С и выливали на лед. Продукт экстрагировали хлороформом, экстракт промывали насыщенным раствором NaHCO_3 (3 раза), водой (2 раза), высушивали и упаривали. Из остатка методом КХ в эфире с метанолом (95:5) выделяли тритиловый эфир (XIV), R_f 0,5(Б). Спектр ^1H -ЯМР (CDCl_3): 1,60; 2,00; 2,10; 2,13 (с, 12Н, CH_3CO), 3,34 (дд, 1Н, Н6а, $J_{6a,6b}$ 10), 3,37 (с, 3Н, CH_3O), 3,45 (дд, 1Н, Н6b, $J_{5,6b}$ 2,7), 3,60 (ддд, 1Н, Н5, $J_{5,6a}$ 4,8), 3,84 (дд, 1Н, Н3, $J_{3,4}$ 9,5), 3,91 (дд, 1Н, Н2, $J_{2,3}$ 3,3), 4,01 (т, 1Н, Н4, $J_{4,5}$ 9,5), 4,13 (дд, 1Н, Н6a', $J_{6a',6b'}$ 12), 4,26 (дд, 1Н, Н6b', $J_{5',6b'}$ 5,8), 4,37 (ддд, 1Н, Н5', $J_{5',6a'}$ 2,0), 5,02 (д, 1Н, Н1, $J_{1,2}$ 1,5), 5,04 (д, 1Н, Н1', $J_{1',2'}$ 1,7), 5,24 (дд, 1Н, Н4', $J_{4',5'}$ 9,5), 5,33 (дд, 1Н, Н3', $J_{3',4'}$ 10,3), 5,44 (дд, 1Н, Н2', $J_{2',3'}$ 3,0), 7,18—7,54 (м, 15Н, C_6H_5). Спектр ^{13}C -ЯМР — см. табл. 3.

Метил-3,4-ди-О-ацетил - 2-О-(2,3,4,6-тетра - О-ацетил- α -D-маннопиранозил)-6-О-трифенил- α -D-маннопиранозид (XV). Раствор 180 мг (0,344 ммоль) триола (XIII) и 192 мг (0,688 ммоль) трифенилхлорметана в 5 мл пиридина выдерживали 16 ч при 20° С. После добавления еще 100 мг трифенилхлорметана смесь нагревали 1 ч при 80° С, обрабатывали 3 мл As_2O при 20° С и через 24 ч выливали на лед. Продукт экстрагировали хлороформом, экстракт промывали охлажденным насыщенным раствором NaHCO_3 (5 раз), ледяной водой (3 раза), высушивали и упаривали. Из остатка методом КХ в бензоле с эфиром (7:3) выделили 204 мг гексаацетата (XV) (81%, пена), R_f 0,2(3). Спектр ^1H -ЯМР (CDCl_3): 1,73; 1,79; 2,00; 2,04; 2,10; 2,14 (6с, 18Н, CH_3CO), 3,16 (дд, 1Н, Н6а, $J_{6a,6b}$ 10,5), 3,23 (дд, 1Н, Н6b, $J_{5,6b}$ 5,5), 3,46 (с, 3Н, CH_3O), 3,84 (ддд, 1Н, Н5, $J_{5,6a}$ 2,5), 4,02 (дд, 1Н, Н2, $J_{2,3}$ 2,6), 4,13 (дд, 1Н, Н6a', $J_{5',6a'}$ 5, $J_{6a',6b'}$ 14), 4,21 (м, 1Н, Н5'), 4,26 (дд, 1Н, Н6b', $J_{5',6b'}$ 5), 4,91 (д, 1Н, Н1', $J_{1',2'}$ 1,6), 4,93 (д, 1Н, Н1, $J_{1,2}$ 1,6), 5,21 (дд, 1Н, Н3, $J_{3,4}$ 9,4), 5,24 (т, 1Н, Н4', $J_{4',5'}$ 9,9), 5,28 (т, 1Н, Н4, $J_{4,5}$ 9,4), 5,29 (дд, 1Н, Н2', $J_{2',3'}$ 3,4), 5,39 (дд, 1Н, Н3', $J_{3',4'}$ 9,9), 7,17—7,50 (м, 15Н, C_6H_5). Спектр ^{13}C -ЯМР — см. табл. 3.

Метил-3,4-ди-О-ацетил-2 - О - (2,3,4,6-тетра-О-ацетил- α -D-маннопиранозил)- α -D-маннопиранозид (XI). Раствор 340 мг (0,4 ммоль) тритилового эфира (XV) и 171 мг (0,4 ммоль) перхлората пиридиния в 15 мл смеси нитрометан — MeOH (2:1) нагревали 2 ч при 60° С. Реакцию останавливали прибавлением 0,1 мл пиридина. Смесь упаривали, продукт растворяли в хлороформе, раствор фильтровали и упаривали. Из остатка методом КХ в бензоле с эфиром (8:2) выделили 210 мг маннобиозида (XI) (87%, пена), $[\alpha]_D^{21} +28,4^\circ$ (с 1, хлороформ), R_f 0,6(Б). Спектр ^1H -ЯМР (CDCl_3): 2,00; 2,04; 2,05; 2,07; 2,08; 2,13 (6с, 18Н, CH_3CO), 3,38 (с, 3Н, CH_3O), 3,56—3,73 (м, 3Н, Н5, Н6а, Н6b), 4,03 (дд, 1Н, Н2, $J_{2,3}$ 3,0), 4,08—4,22 (м, 3Н, Н5', Н6a', Н6b'), 4,83 (д, 1Н, Н1, $J_{1,2}$ 1,8), 4,89 (д, 1Н, Н1', $J_{1',2'}$ 1,8), 5,21 (дд, 1Н, Н4', $J_{4',5'}$ 8,9), 5,22 (дд, 1Н, Н4, $J_{4,5}$ 8,5), 5,25 (дд, 1Н, Н2', $J_{2',3'}$ 3,1), 5,29 (дд, 1Н, Н3, $J_{3,4}$ 9,9), 5,36 (дд, 1Н, Н3', $J_{3',4'}$ 9,9). Спектр ^{13}C -ЯМР — см. табл. 3.

Метил-3,4-ди-О-ацетил-2-О-(2,3,4,6-тетра - О - ацетил- α -D-маннопиранозил)-6-О-(2,3,4,6-тетра - О - бензил- α -D-маннопиранозилфосфо)- α -D-маннопиранозид, триэтиламмониевая соль (XVI). Конденсацию соединений (V) (85 мг, 0,12 ммоль) и (XI) (67 мг, 0,11 ммоль) в присутствии триметилацетилхлорида (0,034 мл, 0,275 ммоль) и последующее окисление (через 8 мин) проводили по методике, описанной для синтеза производного (IX). Методом КХ в дихлорметане с метанолом (3→16% MeOH) выделили 113 мг фосфодиэфира (XVI) (78%, пена), $[\alpha]_D^{26} +23,5^\circ$ (с 1,

хлороформ), R_f 0(Г), 0,34(Д). Данные ^1H -ЯМР (CD_3OD): 1,90; 1,92; 1,93; 1,99; 2,00; 2,08 (6с, 18H, CH_3CO), 3,35 (с, 3H, CH_3O), 4,03 (дд, 1H, H2, $J_{2,3}$ 3,3), 4,76 (д, 1H, H1'', $J_{1'',2''}$ 1,8), 4,93 (д, 1H, H1, $J_{1,2}$ 1,3), 5,05 (т, 1H, H4'', $J_{3'',4''}$ 9,7), 5,09 (дд, 1H, H2'', $J_{2'',3''}$ 3,3), 5,21 (дд, 1H, H3'', $J_{3'',4''}$ 9,7), 5,22–5,28 (м, 2H, H3, H4), 5,65 (дд, 1H, H1', $J_{1',2'}$ 1,9, $J_{1',p}$ 7,9), 7,08–7,43 (м, 20H, C_6H_5). Спектр ^{13}C -ЯМР – см. табл. 2. Спектр ^{31}P -ЯМР (CD_3OD): –0,78.

Метил-2-О- α -D-маннопиранозил - 6-О- α -D-маннопиранозилфосфо- α -D-маннопиранозид, натриевая соль (II). Раствор 83 мг фосфодиаэфира (XVI) в 10 мл смеси MeOH–диоксан (1:1) обрабатывали дауэксом 50W \times 4 (Na^+) 5 ч при 20° С. Катионит отфильтровывали, фильтрат упаривали, остаток гидрировали над 10% Pd/C в 20 мл метанола с тетрагидрофураном (1:1) 5 ч при 20° С. Катализатор отфильтровывали, фильтрат упаривали, остаток обрабатывали смесью MeOH–H₂O–Et₃N (2:1:1, 4 мл) 16 ч при 1° С. После упаривания раствора продукт выделяли гель-хроматографией, объем выхода 40–55 мл. Получили 37 мг гликозилфосфосахара (II) (94,3%, аморфный порошок), $[\alpha]_D^{25} +48,2^\circ$ (с 0,96, вода), R_f 0,19(E). Спектр ^1H -ЯМР (D_2O): 3,38 (с, 3H, CH_3O), 3,58 (т, 1H, H4, $J_{4,5}$ 9,3), 3,59–3,84 (м, 9H, H4', H4'', H5, H5', H5'', H6a', H6b', H6a'', H6b''), 3,85 (дд, 1H, H3, $J_{3,4}$ 9,3), 3,87 (дд, 1H, H3'', $J_{3'',4''}$ 9,5), 3,90 (дд, 1H, H3', $J_{3',4'}$ 9,4), 3,95 (дд, 1H, H2'', $J_{2'',3''}$ 3,1), 3,99 (дд, 1H, H2', $J_{2',3'}$ 3,4), 4,06 (дд, 1H, H2, $J_{2,3}$ 3,3), 4,08 (ддд, 1H, H6a, $J_{5,6a}$ 4,5, $J_{6a,6b}$ 11,5, $J_{6a,p}$ 6,6), 4,15 (ддд, 1H, H6b, $J_{5,6b}$ 2,0, $J_{6b,p}$ 5,8), 4,97 (д, 1H, H1'', $J_{1'',2''}$ 1,5), 5,01 (д, 1H, H1, $J_{1,2}$ 1,8), 5,42 (дд, 1H, H1', $J_{1',2'}$ 1,9, $J_{1',p}$ 7,7). Спектр ^{13}C -ЯМР – см. табл. 2. Спектр ^{31}P -ЯМР (D_2O): –0,98.

Авторы благодарят А. С. Шашкова за съемку и помощь в интерпретации спектров ^1H - и ^{13}C -ЯМР.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Шибаяев В. Н., Джорунбекова Дж., Елисеева Г. И., Кочетков Н. К. // Биоорг. химия. 1986. Т. 12. № 9. С. 1225–1233.
2. Шибаяев В. Н., Елисеева Г. И., Джорунбекова Дж., Кочетков Н. К. // Биоорг. химия. 1987. Т. 13. № 7. С. 940–946.
3. Thieme T. R., Ballou C. E. // Biochemistry. 1971. V. 10. № 22. P. 4121–4129.
4. Raschke W. C., Ballou C. E. // Biochemistry. 1971. V. 10. № 22. P. 4130–4135.
5. Rosenfeld L., Ballou C. E. // J. Biol. Chem. 1974. V. 249. P. 2319–2321.
6. Gorin P. A. J., Mazurek M. // Can. J. Chem. 1974. V. 52. P. 3070–3076.
7. Bretthauer R. K., Kaczorowski B. J., Wiese M. J. // Biochemistry. 1973. V. 12. P. 1251–1256.
8. Николаев А. В., Шибаяев В. Н., Кочетков Н. К. // Биоорг. химия. 1987. Т. 13. № 11. С. 1591–1593.
9. Nikolaev A. V., Eliseyeva G. I., Ryabtseva E. V., Shibaev V. N., Kochetkov N. K. // XIV Internat. Carbohydrate Sympos. Stockholm, 1988. P. 172.
10. Николаев А. В., Рябцева Е. В., Шибаяев В. Н., Кочетков Н. К. // Биоорг. химия. 1989. Т. 15. № 5. С. 710–711.
11. Cawley T. N., Letters R. // Carbohydr. Res. 1971. V. 19. № 3. P. 373–382.
12. Ogawa T., Seta A. // Carbohydr. Res. 1982. V. 110. № 1. P. C1–C4.
13. Garegg P. J., Regberg T., Stawinski J., Strömberg R. // Chem. scr. 1985. V. 25. № 5. P. 280–282.
14. Garegg P. J., Regberg T., Stawinski J., Strömberg R. // Chem. scr. 1986. V. 26. № 1. P. 59–62.
15. Кочетков Н. К., Дмитриев Б. А., Байрамова Н. Э., Николаев А. В. // Изв. АН СССР. Сер. хим. 1978. № 3. С. 652–656.
16. Koto S., Morishima N., Mijata Y., Zen S. // Bull. Chem. Soc. Jap. 1976. V. 49. № 9. P. 4051–4054.
17. Ogawa T., Sasajima K. // Carbohydr. Res. 1981. V. 93. № 1. P. 53–66.
18. Ogawa T., Sasajima K. // Carbohydr. Res. 1981. V. 93. № 2. P. 231–240.
19. Sondheimer S. J., Eby R., Schuerch C. // Carbohydr. Res. 1978. V. 60. № 1. P. 187–192.
20. Ogawa T., Matsui M. // Carbohydr. Res. 1978. V. 62. № 1. P. C1–C4.
21. De Rooij J. F. M., Wille-Hazeleger G., van Deursen P. H., Serdijn J., van Boom J. H. // Recueil trav. chim. Pays-Bas. 1979. V. 98. № 11. P. 537–548.
22. Garegg P. J., Regberg T., Stawinski J., Strömberg R. // J. Chem. Soc. Perkin Trans. I. 1987. P. 1269–1273.
23. Nashed M. A. // Carbohydr. Res. 1978. V. 60. № 1. P. 200–205.
24. Srivastava O. P., Hindsgaul O. // Carbohydr. Res. 1985. V. 143. № 1. P. 77–84.
25. Николаев А. В., Иванова И. А., Шибаяев В. Н., Кочетков Н. К. // Биоорг. химия. 1989. Т. 15. № 6. С. 847–849.

26. Nikolaev A. V., Ivanova I. A., Eliseyeva G. I., Shibaev V. N., Kochetkov N. K. // Tetrahedron Lett. In press.
27. Елизеева Г. И., Николаев А. В., Шибеев В. Н., Кочетков Н. К. // Биоорган. химия. 1989. Т. 15. № 8. С. 1140-1143.
28. Vaskovsky V. E., Kostetsky E. Y., Vasendin J. M. // J. Chrom. 1975. V. 114. P. 129-141.

Поступила в редакцию
17.V.1989

FRAGMENTS OF BIOPOLYMERS CONTAINING GLYCOSYL PHOSPHATE
RESIDUES. 3. USE OF HYDROGENPHOSPHONATE APPROACH
FOR SYNTHESIS OF GLYCOSYL PHOSPHOSUGARS, IMMUNODOMINANT
FRAGMENTS OF YEAST PHOSPHOGLYCANS

NIKOLAEV A. V., RYABTSEVA E. V., SHIBAEV V. N., KOCHETKOV N. K.

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

Hydrogenphosphonate approach was used successfully for a synthesis of 1→6-linked glycosyl phosphosugars, such as methyl 6-O- α -D-mannopyranosylphospho- α -D-mannopyranoside and methyl 2-O- α -D-mannopyranosyl-6-O- α -D-mannopyranosylphospho- α -D-mannopyranoside. They were obtained by condensation of 2,3,4,6-tetra-O-benzyl- α -D-mannopyranosyl H-phosphonate and suitable hydroxyl mono- or di-saccharide derivative in the presence of trimethylacetyl chloride followed by oxidation with iodine and deprotection. The data of ^1H , ^{13}C and ^{31}P NMR spectra of the synthesized hydrogenphosphonate and the phosphate diesters are reported.