



УДК 547.458.34.057

СИНТЕЗ ТРИСАХАРИДНОГО ФРАГМЕНТА О-СПЕЦИФИЧЕСКИХ ПОЛИСАХАРИДОВ *SALMONELLA* СЕРОЛОГИЧЕСКИХ ГРУПП C₂ И C₃ И ПРЕВРАЩЕНИЕ В ИСКУССТВЕННЫЙ АНТИГЕН СОПОЛИМЕРНОГО ТИПА**Черняк А. Я., Демидов И. В., Кочетков Н. Б.***Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского Академии наук СССР,
Москва*

Описаны синтезы абеквозил-($\alpha 1 \rightarrow 3$)-*L*-рамнопиранозил-(1 \rightarrow 2)-*D*-маннопиранозидов, аномерных по рамнозному остатку. Использован 2-бензилоксикарбониламиноэтильный агликон, превращаемый в 2-акриламидоэтильный агликон на заключительных стадиях синтезов. Полученные 2-акриламидоэтил- α -гликозиды изомерных трисахаридов превращены в искусственные антигены сополимерного типа, представляющие интерес для изучения иммунохимии фактора O:8 O-антигенов *Salmonella* (серологические группы C₂ и C₃).

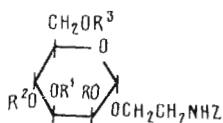
Общим олигосахаридным фрагментом O-специфических полисахаридных цепей *Salmonella* серологических групп C₂ (факторы O:6,8) и C₃ (факторы O:8,20) [1] является трисахарид Abe-($\alpha 1 \rightarrow 3$)-*L*-Rha-($\beta 1 \rightarrow 2$)-*D*-Man-($\alpha 1 \rightarrow$, причем вначале [2] остатку *L*-рамнозы приписывали α -конфигурацию. Химической структурой, ответственной за проявление фактора O:8, общего для обеих серологических групп, считается дисахаридный фрагмент абеквозил-($\alpha 1 \rightarrow 3$)-рамноза [3]. Для выяснения роли конфигурации рамнозидной связи в иммунохимии фактора O:8 ранее мы синтезировали абеквозил-рамнозиды, аномерные по остатку *L*-рамнозы, и искусственные антигены на их основе [4]. В данной работе мы описываем синтез абеквозил-($\alpha 1 \rightarrow 3$)-рамнозил-(1 \rightarrow 2)-маннозидов, аномерных по остатку рамнозы, в форме, обеспечивающей дальнейшее превращение олигосахаридов в высокомолекулярные сополимеры. В качестве агликона триозида использована 2-бензилоксикарбониламиноэтильная группировка, легко превращаемая в 2-аминоэтильную в условиях каталитического гидронолиза. Аминоэтилгликозиды после N-акрилолирования использованы для сополимеризации с акриламидом с целью превращения в искусственные антигены.

Схема получения маннозного производного для синтеза трисахаридов предусматривает возможность избирательного освобождения не только 2-ОН-, но и 3-ОН-группы; последнее необходимо для планируемого нами синтеза дисахаридной детерминанты фактора O:6 *Salmonella* [3]. С этой целью использовано избирательное алкилирование 2,3-станцилденового комплекса [5]: избирательное 3-О-бензилирование оставляет свободной 2-ОН-группу. Аналогичным образом избирательное аллилирование позволяет временно защитить, а затем освободить 3-ОН-группу.

Конденсация ацетобромманнозы и 2-бензилоксикарбониламиноэтанола [6] в ацетонитриле в присутствии цианида ртути с выходом 62% приводит к (2-бензилоксикарбониламиноэтил)-2,3,4,6-тетра-О-ацетил- α -*D*-маннопиранозиду (I). При деацетилировании ацетата (I) действием метилата натрия в метаноле получили (2-бензилоксикарбониламиноэтил)- α -*D*-маннопиранозид (II), строение которого следовало из данных спектра ¹³C-ЯМР. Последующее избирательное ацетонирование маннозида (II) действием 2-метоксипропена в DMF в присутствии безводной *n*-толуолсульфо-

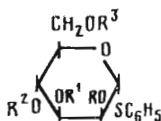
Сокращения: Abe – абеквоза (3,6-дидезокси-*D*-ксило-гексопираноза), Ac – ацетил, Bn – бензил, Bz(NO₂) – *n*-нитробензоил, Z – бензилоксикарбонил, DMTST – диметил(метилтило)сульфонийтрифлат.

кислоты [7] с выходом 68% привело к 4,6-О-изопропилиденовому производному (III). Строение изопропилиденманнозида (III) подтверждали данные спектров ^1H - и ^{13}C -ЯМР (см. «Экспериментальную часть»). Так, наличие сигнала четвертичного С-атома при 100,1 м. д. в спектре ^{13}C -ЯМР



- (I) $\text{R}=\text{R}^1=\text{R}^2=\text{R}^3=\text{Ac}$
 (II) $\text{R}=\text{R}^1=\text{R}^2=\text{R}^3=\text{H}$
 (III) $\text{R}=\text{R}^1=\text{H}$, R^2 , $\text{R}^3=\text{C}(\text{CH}_3)_2$
 (IV) $\text{R}=\text{H}$, $\text{R}^1=\text{Bn}$, R^2 , $\text{R}^3=\text{C}(\text{CH}_3)_2$
 (V) $\text{R}=\text{Ac}$, $\text{R}^1=\text{Bn}$, R^2 , $\text{R}^3=\text{C}(\text{CH}_3)_2$
 (VIII) $\text{R}=\text{R}^1=\text{Ac}$, $\text{R}^2=\text{R}^3=\text{Bn}$
 (IX) $\text{R}=\text{R}^1=\text{H}$, $\text{R}^2=\text{R}^3=\text{Bn}$
 (X) $\text{R}=\text{H}$, $\text{R}^1=\text{R}^2=\text{R}^3=\text{Bn}$
 (XIII) $\text{R}=\text{Ac}$, $\text{R}^1=\text{R}^2=\text{R}^3=\text{Bn}$

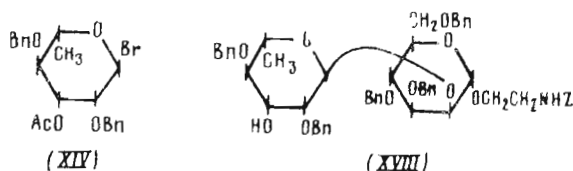
свидетельствовало об образовании изопропилиденкетала с *m*-диоксановым циклом [8]. Кипячение диола (III) с дибутилоловооксидом в абс. метаноле [5] и последующее избирательное бензилирование полученного стапнилиденового комплекса бромистым бензилом в DMF привело к 3-О-бензилманнозиду (IV) с выходом 72%. Сравнение спектров ^1H - и ^{13}C -ЯМР маннозида (IV) и продукта его ацетилирования (V) однозначно указывало на



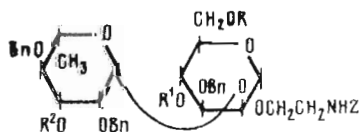
- (VI) $\text{R}=\text{R}^1=\text{H}$, $\text{R}^2=\text{R}^3=\text{Bn}$
 (VII) $\text{R}=\text{R}^1=\text{Ac}$, $\text{R}^2=\text{R}^3=\text{Bn}$
 (XI) $\text{R}=\text{H}$, $\text{R}^1=\text{R}^2=\text{R}^3=\text{Bn}$
 (XII) $\text{R}=\text{Ac}$, $\text{R}^1=\text{R}^2=\text{R}^3=\text{Bn}$

наличие свободной ОН-группы при С2 в продукте бензилирования (IV).

Другой вариант маннозного синтона, не содержащего относительно лабильной 4,6-О-изопропилиденовой группы, был получен исходя из фенил-4,6-ди-О-бензил-1-тио- α -D-маннопиранозида (VI) [9]. Конденсация



диацетата (VII) с 2-бензилоксикарбониламиноэтанолом в дихлорметане в присутствии тиофильного промотора диметил(метилтио)сульфонийтрифталата (DMTST) [10] и молекулярных сит 4 Å с выходом 57% приводит к α -маннозиду (VIII). Полученный при омылении диацетата (VIII) диол



- (XV) R , $\text{R}^1=\text{C}(\text{CH}_3)_2$, $\text{R}^2=\text{Ac}$
 (XVI) R , $\text{R}^1=\text{C}(\text{CH}_3)_2$, $\text{R}^2=\text{H}$
 (XVII) $\text{R}=\text{R}^1=\text{Bn}$, $\text{R}^2=\text{H}$

(IX) переводили в станилиденный комплекс, избирательное бензилирование которого дало 3,4,6-три-*O*-бензилманнозид (X) с выходом 68,5% (общий выход в расчете на (VI) составил 37%).

С более высоким общим выходом (58%) тот же самый маннозный ситоп был получен в результате следующих реакций: станилиденный комплекс диола (VI) избирательным бензилированием (бензибромид в DMF) перевели в фенил-3,4,6-три-*O*-бензил-1-тио- α -*D*-маннопиранозид (XI); при конденсации 2-ацетата (XII) с 2-бензилоксикарбоциламиноэтанолом в присутствии DMTST, как описано выше, получили α -маннозид (XIII) (выход 76%); дезацетилирование маннозида (XIII) по Земплону привело к маннозному ситопу (X), строение которого подтвердили данные спектра ^{13}C -ЯМР (см. «Экспериментальную часть»).

Конденсация маннозных ситонов (IV) и (X) с 3-*O*-ацетил-2,4-ди-*O*-бензил- α -*L*-рамнопиранозилбромидом (XIV) [4] в толуоле в присутствии карбоната серебра и молекулярных сит 4 Å с последующим дезацетилированием продуктов реакции в первом случае приводит исключительно к защищенному дисахариду (XVI) с β -*L*-рамнозидной связью (выход 43%), а во втором — к смеси аномерных дисахаридов (XVII) и (XVIII) (общий выход 35%, соотношение β - и α -аномеров 2:1), разделенных методом ВЭЖХ на силикагеле. β -Конфигурацию рамнозидной связи в защищенных дисахаридах (XVI) и (XVII) подтверждали данные спектров ^{13}C -ЯМР — значения хим. сдвигов сигналов аномерных C-атомов остатка рамнозы и КССВ ($J_{\text{C1, H1}}$) (102,9 м. д. (159 Гц) и 102,1 м. д. (156 Гц)) соответственно.

Аномерная область спектра ^{13}C -ЯМР защищенного дисахарида (XVIII) содержала два сигнала при 97,5 и 95,8 м. д. с одной и той же КССВ ($J_{\text{C1, H1}}$ 166 Гц), что указывало на α -конфигурацию рамнозидной связи.

Низкая стереоселективность и невысокий выход при рамнозилровании маннозида (X), видимо, не случайны. Этот результат согласуется с данными японских авторов [11], получивших при конденсации 2,3,4-три-*O*-бензил- α -*L*-рамнопиранозилбромидом и метил-3,4,6-три-*O*-бензил- β -*D*-глюкопиранозидом в условиях гетерогенного катализа (силикат серебра) смесь аномерных дисахаридов с выходом 53%.

Гликозилрование биозидов (XVI) 2,4-ди-*O*-(*p*-нитробензоил)-абеквозилбромидом (XIX) [12] в дихлорметане в присутствии цианида и бромида ртути и молекулярных сит 4 Å через 2 сут привело к трисахариду (XX) (выход 42%), в котором отсутствует защитная изопропилиденная группировка (данные спектра ^{13}C -ЯМР). При проведении той же реакции в течение 16 ч с выходом 76,5% был выделен защищенный трисахарид (XXI), строение которого подтверждали данные спектра ^{13}C -ЯМР (см. «Экспериментальную часть»); в частности, появление в аномерной области наряду с сигналами остатков рамнозы и маннозы (102,6 и 100,6 м. д.) сигнала остатка абеквозы (90,9 м. д.). Удаление изопропилиденной группы гидролизом трифторуксусной кислоты в хлороформе привело к диолу (XX), а последующее *O*-дезацелирование дало частично защищенный трисахарид (XXII) с выходом 88,5%.

Гликозилрование второго биозидов (XVII) гликозилбромидом (XIX) в описанных выше условиях привело к защищенному трисахариду (XXIII) (выход 58%), в спектре ^{13}C -ЯМР которого в аномерной области присутствовали сигналы при 90,8; 102,1 и 99,8 м. д. (C1 остатков абеквозы, рамнозы и маннозы соответственно). При *O*-дезацелировании соединения (XXIII) метилатом натрия в метаноле получили частично защищенный трисахарид (XXIV) (выход 99,5%), структуру которого подтверждали данные спектра ^{13}C -ЯМР (см. «Экспериментальную часть»).

Каталитический гидрогенолиз частично защищенных трисахаридов (XXII) и (XXIV) над 10% палладием на угле в метаноле (как это описано в работе [13]), этаноле и их смесях с водой и уксусной кислотой при атмосферном давлении проходил очень медленно и с осложнениями. И только гидрогенолиз в уксусной кислоте через 8 ч привел к незащищенному трисахариду (XXV) со свободной аминогруппой в агликоне. Гидрогенолиз частично защищенных трисахаридов (XXII) и (XXIV) в этих

Данные спектров ^{13}C -ЯМР олигосахаридов и сополимеров на их основе
(δ , м. д.) *

Соединение	Моносахаридный остаток	$\text{C1}(J_{\text{C1, H1}}, \text{Гц})$	C2	C3	C4	C5	C6	OCH_2	CH_2N
(XXVI)	Abe	96,4 (170,2)	64,4	34,3	69,6	67,2	16,5		
	Rha	102,5 (160,9)	71,6	78,3	67,8	74,0 *	18,2		
	Man	100,3 (173,9)	79,5	71,6	68,4	73,4 *	61,8	67,8	40,3
(XXVII) **	Rha	102,6	71,65	74,0	73,4	73,3	18,0		
	Man	100,3	79,5	71,6	67,9 *	73,9	61,9	67,3 *	40,3
(XXXI)	Abe	96,5 (168,5)	64,6	34,3	69,9	68,0	16,7		
	Rha	98,2 (168,5) *	68,8	77,0 **	71,1	70,4	18,1		
	Man	99,4 (170,9) *	76,4 **	71,9	68,1	74,6	62,2	67,4	40,4
(XXXII)	Abe	95,9	64,0	33,8	69,3	66,6	16,2		
	Rha	102,0	71,2	78,2	67,4	73,6 *	17,9		
	Man	99,7	78,9	71,2	68,1	73,0 *	61,4	67,4	39,8
(XXXIII)	Abe	96,4	64,3	34,0	69,6	67,6	16,4		
	Rha	97,7 *	68,5	76,6 **	70,7	70,1	17,9		
	Man	99,0 *	76,1 **	71,5	67,8	74,4	62,0	66,9	39,9

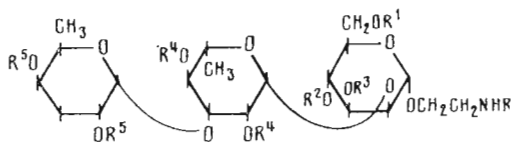
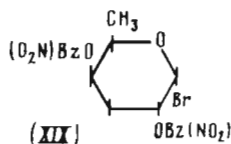
* Для растворов в D_2O ; хим. сдвиги: $\text{CH}=\text{CH}_2$ — 128,4—128,9, $\text{CH}=\text{CH}_2$ — 131,3—131,4, CONH_2 — 180,3, CCH_2 — 42,6—43,2, CCH_2 — 35,7—36,9; отнесение сигналов, отмеченных * или **, может быть обратным.

** Отнесение сигналов с близкими значениями хим. сдвигов может быть обратным.

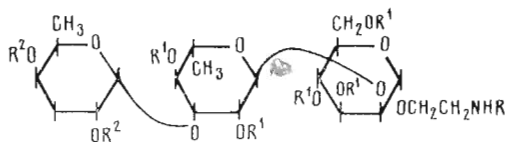
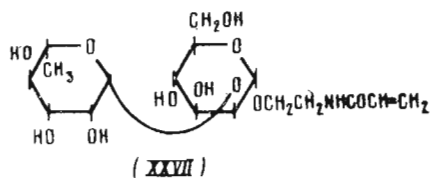
условиях сопровождается частичным расщеплением абеквонидной связи, поэтому при последующем N-ацилировании действием акрилоилхлорида в водном метаноле в присутствии анионита (HCO_3^-) [14] паряду с акрил-амидоэтилгликозидом трисахарида (XXVI) (выход 49—51%) методом ВЭЖХ был выделен (2-акриламидоэтил)-2-O-(β -L-рампиопиранозил)- α -D-маниопиранозид (XXVII) с выходом 10%. Гликозиды ди- и трисахарида (XXVII) и (XXVI) имели практически одинаковую хроматографическую подвижность при ТСХ. Строение гликозидов (XXVI) и (XXVII) подтверждали данные спектров ^{13}C -ЯМР (таблица).

Для получения аналога трисахаридного фрагмента (XXVI) с α -L-рампионидной связью дисахаридный синтон (XVIII) гликозилировали гликозилбромидом (XIX) в хлористом метиле в присутствии цианида и бромида ртути и молекулярных сит 4 А. Конденсация протекала с преимущественным образованием α -абеквонидной связи, изомерные защищенные трисахариды (XXVIII) и (XXIX) были выделены с помощью ВЭЖХ с выходами 63 и 30%. Конфигурацию образовавшейся абеквонидной связи подтверждали данные спектров ^{13}C -ЯМР: α для трисахарида (XXVIII) (сигнал C1 при 91,5 м. д. с $^1J_{\text{C1, H1}}$ 173,3 Гц) и β для трисахарида (XXIX) (сигнал C1 при 103,1 м. д. с $^1J_{\text{C1, H1}}$ 161,4 Гц). Дезацелированием по Земплу защищенный трисахарид (XXVIII) превращали в гликозид (XXX) с количественным выходом. Последующий гидролиз и N-акрилоилирование в описанных выше условиях привели к акриламидоэтилгликозиду (XXXI), являющемуся α -рампионным аналогом трисахаридного фрагмента (XXVI). Строение гликозида (XXXI) подтверждали данные спектра ^{13}C -ЯМР (таблица).

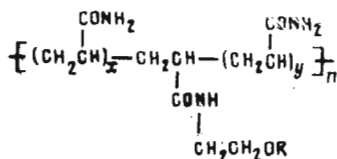
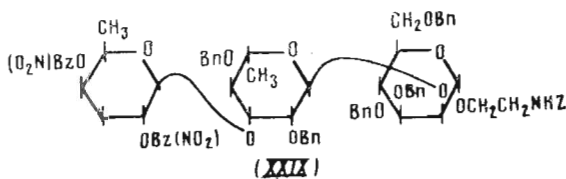
Превращение изомерных акриламидоэтилгликозидов (XXVI) и (XXXI), а также дисахаридного гликозида (XXVII) в искусственные антигены было осуществлено радикальной сополимеризацией с акриламидом по стандартной методике, использовавшейся нами и ранее [4]. Соотношение углеводного мономера и акриламида в исходной смеси составляло 1 : 7, то же соотношение мономеров сохранялось и в составе полученных сополимеров (данные спектров ^{13}C -ЯМР, таблица), выделенных с высокими выходами гель-хроматографией на сефадексе G-50. Величина



- (XX) R=Z, R¹=R²=H, R³=R⁴=Bn, R⁵=Bz(NO₂)
 (XXI) R=Z, R¹, R²=C(CH₃)₂, R³=R⁴=Bn, R⁵=Bz(NO₂)
 (XXII) R=Z, R¹=R²=R³=H, R⁴=Bn
 (XXIII) R=Z, R¹=R²=R³=R⁴=Bn, R⁵=Bz(NO₂)
 (XXIV) R=Z, R¹=R²=R³=R⁴=Bn, R⁵=H
 (XXV) R=R¹=R²=R³=R⁴=R⁵=H
 (XXVI) R=CH₂=CHCO, R¹=R²=R³=R⁴=R⁵=H



- (XXVIII) R=Z, R¹=Bn, R²=Bz(NO₂)
 (XXX) R=Z, R¹=Bn, R²=H
 (XXXI) R=CH₂=CHCO, R¹=R²=H



- (XXXII) R=Abe-(α1→3)-L-Rha-(β1→2)-D-Man-(α1→
 (XXXIII) R=Abe-(α1→3)-L-Rha-(α1→2)-D-Man-(α1→
 (XXXIV) R=L-Rha-(β1→2)-D-Man-(α1→

оптического вращения сополимеров (XXXII)–(XXXIV) также позволила оценить содержание углеводов (35–43%) в сополимерах.

Данные об использовании полученных искусственных антигенов сополимерного типа для изучения иммунохимии фактора O:8 сальмонелл будут опубликованы отдельно.

Авторы благодарят д-ра хим. наук А. С. Шашкова за съемку спектров ¹H- и ¹³C-ЯМР.

Экспериментальная часть

ТСХ выполнена на пластинках DC-Alufolien Kieselgel 60F₂₅₄ (Merck, ФРГ) с использованием следующих систем растворителей: бензол — ацетон, 4:1 (А), 9:1 (Б), 85:15 (В), 3:2 (Г) и 7:3 (Д), хлороформ — этанол, 3:2 (Е), хлороформ — метанол, 9:1 (Ж) и 4:1 (З), хлороформ — ацетон, 4:1 (И), этилацетат — метанол, 9:1 (К), гексан — этилацетат, 4:1 (Л), бензол — эфир, 4:1 (М) и этилацетат — метанол — уксусная кислота — вода, 6:3:3:2 (Н). Для обнаружения веществ пластинки погружали в 25% серную кислоту и нагревали на электроплитке. Амины обнаруживали опрыскиванием 0,3% раствором нингидрина в этаноле с последующим нагреванием. Акрилоильные производные детектировали опрыскиванием 1% водно-содовым раствором перманганата калия. Препаративное разделение осуществляли на колонках с силикагелем L40/100, L100/160 мкм (ЧССР) и Silpearl (ЧССР). Препаративную ВЭЖХ проводили на колонке (2,5×25 см) с силикагелем Silasorb-600(LC), 10 мкм (ЧССР) с использованием насоса фирмы Gilson, модель 303 (Франция), и дифференциального УФ-детектора ISCO (США). Спектры ¹H- и ¹³C-ЯМР получены на спектрометре Bruker WM-250 (ФРГ) с рабочей частотой 250 МГц (протоны) и 62,89 МГц (углерод-13) с внутренним стандартом тетраметилсиданом для растворов в CDCl₃ и CH₃OH (δ 50,15 м.д.) — для растворов в D₂O. Химические сдвиги приведены в δ-шкале, КССВ — в герцах. Температуры плавления определены на микроблоке Кофлера, удельное вращение измерено на поляриметре DIP-360 (Jasco, Япония). Диметил (метилтио)сульфонийтрифлат (DMTST) получали по методике [15].

(2-Бензилоксикарбониламиноэтил) - 2,3,4,6-тетра-О-ацетил-α-D-маннопиранозид (I). Смесь 334 мг (1,71 ммоль) 2-бензилоксикарбониламиноэтанола [6] и 648 мг (2,57 ммоль) цианида ртути перемешивали 30 мин с 1 г прокаленных молекулярных сит 4 А в 2 мл ацетонитрила. Затем к смеси при перемешивании и по каплям добавляли в течение 1 ч раствор 1,05 г (2,55 ммоль) ацетобромманнозы в 4 мл ацетонитрила. Смесь перемешивали 16 ч, упаривали, остаток растворяли в 50 мл хлороформа, фильтровали от нерастворимых солей ртути и фильтрат промывали насыщенным раствором KI (70 мл), насыщенным раствором NaHCO₃ (50 мл), водой (100 мл), фильтровали через вату и упаривали. Полученный сироп (1,275 г) хроматографировали, элюируя градиентом ацетона (1—14%) в бензоле. Выделили 560 мг (выход 62,5%) хроматографически однородного маннозида (I), $[\alpha]_D^{20} +17,1^\circ$ (с 1,12, CHCl₃), R_f 0,4 (А). Спектр ¹³C-ЯМР (CDCl₃): 170,7; 170,1; 170,0 и 169,8 (C=O), 128,6 и 128,2 (C₆H₅), 97,8 (C1), 69,5; 69,0; 68,8; 67,8; 66,9 и 66,2 (C2-C5, OCH₂, OCH₂C₆H₅), 62,6 (C6), 40,7 (CH₂N), 20,9 и 20,7 (COCH₃).

(2-Бензилоксикарбониламиноэтил)-α-D-маннопиранозид (II). К раствору 6,4 г тетраацетата (I) в 50 мл абс. метанола добавляли 0,5 мл 1 н. раствора метилата натрия в метаноле. Смесь выдерживали 1 ч при 20° С, нейтрализовали катионом КУ-2 (H⁺), фильтровали и упаривали. Получили 4,15 г (выход 95,5%) хроматографически однородного маннозида (II), $[\alpha]_D^{20} +41,7^\circ$ (с 1,52, CHCl₃), R_f 0,6 (Е). Спектр ¹³C-ЯМР (CD₃OD): 158,9 (C=O), 138,2 и 129,4—128,8 (ароматич. С), 101,6 (C1, ¹J_{C1, H} 168,5), 74,6 (C5), 72,5 (C3), 72,0 (C2), 68,5 (C4), 67,4 (2C) (OCH₂, OCH₂C₆H₅), 62,8 (C6), 41,6 (CH₂N).

(2-Бензилоксикарбониламиноэтил)-4,6-О-изопропилиден-α-D-маннопиранозид (III). К раствору 194 мг (0,543 ммоль) маннозида (II) в 1,1 мл абс. DMF под аргоном добавляли 15¼ мкл (1,61 ммоль) 2-метоксипропена и каталитическое количество безводной *n*-толуолсульфокислоты. Смесь перемешивали 1 ч при 20° С и выдерживали 4 сут при 4° С, контролируя ход реакции ТСХ (система К). Реакционную смесь нейтрализовали триэтиламино, DMF удаляли в вакууме масляного насоса, полученный остаток хроматографировали, элюируя градиентом этанола (0—15%) в хлороформе. Выделяли 147 мг хроматографически однородного маннозида (III), который кристаллизовали из смеси эфир — ацетон — гексан. Получили

146 мг (выход 68%) изопронилиденманнозида (III). Т. пл. 124–126° С, $[\alpha]_D^{20} +32,3^\circ$ (с 2,92, CHCl_3), R_f 0,65 (К). Спектр ^1H -ЯМР $[(\text{CD}_3)_2\text{CO}]$: 1,30 и 1,45 [2с, 2×3Н, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 3,28–3,48 (м, 3Н, Н5, CH_2N), 3,47 (ддд, 1Н, $J_{2,3}$ 4,0, $J_{3,4}$ 9,5, $J_{3,\text{OH}}$ 6,0, Н3), 3,54 (дт, 1Н, $J_{\text{H, H}_{\text{геом}}}$ 9,5, $J_{\text{H, H}_{\text{винц}}}$ 8,0, OCH_A), 3,70–3,78 (м, 3Н, Н6_A, Н6_B, OCH_B), 3,86 (ддд, 1Н, $J_{1,2}$ 1,5, $J_{2,3}$ 4,0, $J_{2,\text{OH}}$ 4,0, Н2), 3,93 (т, 1Н, $J_{3,4} \approx J_{4,5} = 9,5$, Н4), 4,17 (д, 1Н, $J_{3,\text{OH}}$ 6,0, 3-OH), 4,30 (д, 1Н, $J_{2,\text{OH}}$ 4,0, 2-OH), 5,05 (с, 2Н, $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 6,57 (ус, 1Н, NH), 7,30–7,40 (м, 5Н, C_6H_5). Спектр ^{13}C -ЯМР $[(\text{CD}_3)_2\text{CO}]$: 157,4 (C=O), 138,3; 129,2 и 128,6 (ароматич. С), 101,85 (С1, $J_{\text{C1, H}}$ 170,9), 100,1 [$\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 72,15 (2С), (С2, С4), 69,4 (С3), 67,0 и 66,5 (OCH_2 $\text{OCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 65,5 (С5), 62,8 (С6), 41,4 (CH_2N), 29,5 и 19,4 [$\text{C}(\text{CH}_3)_2$].

(2-Бензилоксикарбониламиноэтил)-3-О-бензил-4,6-О-изопронилиден- α -D-маннопиранозид (IV). Раствор 1,42 г (3,58 ммоль) маннозида (III) в 20 мл абс. метанола кипятят 1 ч с 538 мг (2,16 ммоль) дибутилового оксида (Aldrich, США) до полного растворения последнего. Затем раствор упаривали, остаток сушили в вакууме масляного насоса. Полученный станилиденный комплекс растворяли в 6 мл абс. DMF, добавляли 860 мкл (7,23 ммоль) бензилбромид, смесь нагревали 9 ч при 100° С (масляная баня), контролируя ход реакции ТСХ (система И). После исчезновения исходного маннозида (III) с R_f 0,2 и появления продукта реакции с R_f 0,6 смесь упаривали, полученный окрашенный сироп хроматографировали, элюируя градиентом ацетона (0→6%) в бензоле. Выделили 1,26 г (выход 72%) хроматографически однородного 3-О-бензилманнозида (IV), $[\alpha]_D^{20} +39,3^\circ$ (с 2,5, CHCl_3). Спектр ^1H -ЯМР (CDCl_3): 1,53 и 1,62 [2с, 2×3Н, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 3,20–3,55 (м, 3Н, OCH_A , CH_2N), 3,61 (м, 1Н, $J_{4,5}$ 9,5, Н5), 3,68–3,85 (м, 4Н, $J_{3,4}$ 9,5, $J_{2,3}$ 3,5, Н3; перекрывается с сигналами OCH_B и Н6_A, Н6_B), 3,97 (ддд, 1Н, $J_{1,2}$ 1,5, $J_{2,3}$ 3,5, $J_{2,\text{OH}}$ 3,5, Н2), 4,12 (т, 1Н, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9,5$, Н4), 4,68 и 4,84 (2д, 2×1Н, $J_{\text{H, H}_{\text{геом}}}$ 12,0, С3– $\text{OCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 4,78 (д, 1Н, $J_{1,2}$ 1,5, Н1), 4,80 (д, 1Н, $J_{2,\text{OH}}$ 3,5, 2-OH), 5,12 (с, 2Н, $\text{OCOCCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 7,25–7,40 (м, 10Н, $2\text{C}_6\text{H}_5$). Спектр ^{13}C -ЯМР (CDCl_3): 128,6; 128,5; 128,2; 127,9 и 127,7 (ароматич. С), 100,3 (C1), 99,9 [$\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 76,0 (С3), 73,1 (С3– $\text{OCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 71,4 и 70,0 (С2, С4), 66,9 (2С) (OCH_2 , $\text{OCOCCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 64,5 (С5), 62,4 (С6), 40,8 (CH_2N), 29,4 и 19,3 [$\text{C}(\text{CH}_3)_2$].

При ацелировании маннозида (IV) уксусным ангидридом в пиридине получили (2-бензилоксикарбониламиноэтил)-2-О-ацетил-3-О-бензил-4,6-О-изопронилиден- α -D-маннопиранозид (V). Спектр ^1H -ЯМР (CDCl_3): 1,43 и 1,55 [2с, 2×3Н, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 2,15 (с, 3Н, COCH_3), 3,30–3,55 (м, 3Н, OCH_A , CH_2N), 3,57–3,75 (м, 2Н, Н5, OCH_B), 3,81 [дд, 1Н, $J_{2,3}$ 3,5, $J_{3,4}$ 9,5, Н3; перекрывается с сигналом (2Н) Н6_A и Н6_B], 4,06 (т, 1Н, $J_{3,4} \approx J_{4,5} \approx 9,5$, Н4), 4,66 (с, 2Н, $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 4,73 (д, 1Н, $J_{1,2}$ 1,5 Н1), 5,12 (с, 2Н, $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 5,31 (дд, 1Н, $J_{1,2}$ 1,5, $J_{2,3}$ 3,5, Н2), 7,25–7,40 (м, 10Н, $2\text{C}_6\text{H}_5$). Спектр ^{13}C -ЯМР (CDCl_3): 128,6; 128,3; 128,2 и 127,5 (ароматич. С), 100,0 [$\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 99,0 (С1), 74,3; 71,1 и 69,9 (С2–С4), 72,3 (С3– $\text{OCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 67,1 и 67,0 (OCH_2 , $\text{OCOCCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 65,1 (С5), 62,2 (С6), 40,8 (CH_2N), 29,3 и 19,4 [$\text{C}(\text{CH}_3)_2$].

Фенил-2,3-ди-О-ацетил-4,6-ди-О-бензил-1-тио- α -D-маннопиранозид (VII). При ацелировании фенил-4,6-ди-О-бензил-1-тио- α -D-маннопиранозид (VI) [т. пл. 108–109° С, $[\alpha]_D^{20} +99,1^\circ$ (с 3,0, CHCl_3)] [9] уксусным ангидридом в пиридине с количественным выходом получили диацетат (VII), $[\alpha]_D^{20} +117,0^\circ$ (с 6,03, CHCl_3), R_f 0,6 (Б). Спектр ^{13}C -ЯМР (CDCl_3): 169,8 (C=O), 131,9 и 129,1–127,7 (ароматич. С), 85,9 (С1), 74,9; 73,6; 73,3; 72,6 и 71,9 (С2–С5, 2× $\text{OCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 68,9 (С6), 21,0 (COCH_3).

(2-Бензилоксикарбониламиноэтил)-2,3-ди-О-ацетил-4,6-ди-О-бензил- α -D-маннопиранозид (VIII). Смесь 6,1 г (11,38 ммоль) фенилтиоманнозида (VII) и 2,86 г (14,67 ммоль) 2-бензилоксикарбониламиноэтанола перемешивали 30 мин под аргоном с 4 г прокаленных молекулярных сит 4 Å в 50 мл абс. дихлорметана. К смеси прибавляли 3,82 г (14,8 ммоль) DMST и продолжали перемешивание в течение 1 ч, контролируя ход реакции ТСХ (система Б). После исчезновения исходного тиоманнозида

да (VII) с R_f 0,6 и появления продукта реакции с R_f 0,3 смесь нейтрализовали 1 мл триэтиламина, фильтровали через слой силикагеля и упаривали. Остаток хроматографировали при элюировании градиентом ацетона (0 → 4%) в бензоле. Выделили 4,03 г (выход 57%) хроматографически однородного маннозида (VIII), $[\alpha]_D^{20} +28,8^\circ$ (с 3,51, CHCl_3). Спектр ^{13}C -ЯМР (CDCl_3): 169,8 (C=O), 137,9 и 128,4–127,8 (ароматич. C), 98,0 (C1, $J_{\text{C1, H1}}$ 171), 74,8; 73,6; 73,4; 71,7; 71,6; 70,4; 68,5; 67,9 и 66,7 (C2–C6, OCH_2 , $3 \times \text{OCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 40,8 (CH_2N), 21,0 (COCH_3).

(2-Бензилоксикарбониламиноэтил)-4,6-ди-*O*-бензил- α -*D*-маннопиранозид (IX). При омылении диацетата (VIII) по Земплену получили маннозид (IX) (выход 94%) в виде хроматографически однородного сиропа, $[\alpha]_D^{20} +40,5^\circ$ (с 2,85, CHCl_3), R_f 0,5 (Г). Спектр ^{13}C -ЯМР (CDCl_3): 156,5 (C=O), 138,2–136,4 и 128,4–127,6 (ароматич. C), 99,8 (C1), 75,7 (C4), 71,7 и 70,9 (C2) (C2, C3, C5), 74,6 и 73,3 (C4- и C6- $\text{OCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 68,9; 67,2 и 66,6 (C6, OCH_2 и $\text{OSOCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 40,7 (CH_2N).

(2-Бензилоксикарбониламиноэтил)-3,4,6-три-*O*-бензил- α -*D*-маннопиранозид (X). Раствор 1,36 г (2,53 ммоль) маннозида (IX) в 20 мл абс. метанола кипятили 1 ч с 380 мг (1,53 ммоль) дибутилоловооксида до полного растворения последнего. Смесь упаривали, остаток сушили 30 мин в вакууме масляного насоса. Полученный станнилиденный комплекс кипятили 3 ч с 610 мкл (5,12 ммоль) бензилбромид в 20 мл ацетонитрила в присутствии 500 мкл DMF и 660 мкл (3,65 ммоль) диизопропилэтиламина, контролируя ход реакции ТСХ (система И). После исчезновения исходного маннозида (IX) с R_f 0,25 и появления продукта реакции с R_f 0,5 смесь упаривали. Остаток хроматографировали, элюируя градиентом ацетона (0 → 10%) в бензоле, выделили 1,086 г (выход 68,5%) хроматографически однородного три-*O*-бензилманнозида (X), $[\alpha]_D^{20} +28,3^\circ$ (с 1,09, CHCl_3). Спектр ^{13}C -ЯМР (CDCl_3): 137,9 и 128,6–127,7 (ароматич. C), 99,8 (C1), 80,2 (C3), 75,2 и 73,5 (C4- и C6- $\text{OCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 72,2 (C3- $\text{OCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 74,4; 71,5 и 68,5 (C2, C4, C5), 69,4; 67,9 и 66,8 (C6, OCH_2 , $\text{OSOCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 41,1 (CH_2N).

Фенил-3,4,6-три-*O*-бензил-1-тио- α -*D*-маннопиранозид (XI). Раствор 2 г (4,42 ммоль) фенилтиоманнозида (VI) в 50 мл абс. метанола кипятили 1 ч с 555 мг (2,23 ммоль) дибутилоловооксида до растворения последнего. Смесь упаривали, остаток сушили в вакууме масляного насоса. Полученный станнилиденный комплекс кипятили 4 ч с 890 мкл (7,48 ммоль) бензилбромид и 5 мл DMF в 25 мл абс. ацетонитрила, контролируя ход реакции ТСХ (система Б). После исчезновения исходного маннозида (VI) с R_f 0,3 и появления продукта реакции с R_f 0,5 смесь разбавляли 100 мл бензола, промывали водой (4×200 мл), органический слой упаривали. Остаток (3,462 г) хроматографировали на силикагеле Silpearl, элюируя смесью бензол – ацетон, 97 : 3. Выделили 1,89 г (выход 79%) хроматографически однородного трибензил-фенилтиоманнозида (XI), $[\alpha]_D^{20} +179,4^\circ$ (с 1,78, CHCl_3). Спектр ^{13}C -ЯМР (CDCl_3): 131,6 и 129,0–127,5 (ароматич. C), 87,4 (C1), 80,3 (C3), 75,2 и 73,4 (C4- и C6- $\text{OCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 74,5; 72,3 и 69,9 (C2, C4, C5), 72,4 (C3- $\text{OCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 68,8 (C6).

Фенил-2-*O*-ацетил-3,4,6-три-*O*-бензил-1-тио- α -*D*-маннопиранозид (XII). 1,78 г фенилтиоманнозида (VI) ацетилировали смесью 10 мл уксусного ангидрида и 15 мл абс. пиридина (30 мин при 100° С). Затем смесь упаривали, остаток многократно упаривали с толуолом и этанолом. Получили 1,88 г (выход 98%) хроматографически однородного 2-ацетата (XII), $[\alpha]_D^{20} +103,9^\circ$ (с 1,88, CHCl_3), R_f 0,75 (Б). Спектр ^{13}C -ЯМР (CDCl_3): 170,4 (COCH_3), 161,0 (C=O), 138,2; 137,7 и 131,9–127,7 (ароматич. C.), 86,3 (C1), 78,6; 74,6; 72,6 и 70,4 (C2–C5), 75,3 и 75,4 (C4- и C6- $\text{OCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 72,0 (C3- $\text{OCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 68,9 (C6), 21,2 (COCH_3).

(2-Бензилоксикарбониламиноэтил)-2-*O*-ацетил-3,4,6-три-*O*-бензил- α -*D*-маннопиранозид (XIII). Смесь 1,79 (3,06 ммоль) фенилтиоманнозида (VI) и 658 мг (3,37 ммоль) 2-бензилоксикарбониламиноэтанопола в 25 мл абс. дихлорметана перемешивали 30 мин под аргоном с 2 г молекулярных сит 4 Å. Затем к смеси добавляли 879 мг (3,40 ммоль) DMTST и продолжали перемешивание 20 мин, контролируя ход реакции ТСХ (си-

стема В). После исчезновения исходного маннозида (XII) с R_f 0,75 и появления продукта реакции с R_f 0,4 смесь нейтрализовали 0,5 мл триэтиламина, фильтровали через слой силикагеля и упаривали. Полученный сироп (2,32 г) хроматографировали, элюируя смесью бензол-ацетон, 96:4. Выделили 1,56 г (выход 76%) хроматографически однородного маннозида (XIII), $[\alpha]_D^{20} +14,6^\circ$ (с 1,56, CHCl_3). Спектр ^{13}C -ЯМР (CDCl_3): 170,45 (COCH_3), 137,9 и 128,6–127,8 (ароматич. С), 98,2 (C1), 78,1; 74,4; 71,8 и 68,8 (C2–C5), 75,3 и 73,5 (C4- и C6- $\text{OCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 71,9 (C3- $\text{OCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 69,0; 68,0 и 66,8 (C6, $\text{OSOCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ и OCH_2), 41,0 (CH_2N), 21,1 (COCH_3).

При омылении маннозида (XIII) по Земплону получили хроматографически однородный (2-бензилоксикарбониламиноэтил)-3,4,6-три-О-бензил- α -D-маннопиранозид (X) (выход 99%), $[\alpha]_D^{20} +29,0^\circ$ (с 2,71, CHCl_3), идентичный с вышеописанным образом по данным спектра ^{13}C -ЯМР.

(2-Бензилоксикарбониламиноэтил)-2-О-(2,4-ди-О-бензил- β -L-рамнопиранозил)-3-О-бензил-4,6-О-изопропилиден- α -D-маннопиранозид (XVI). Смесь 770 мг (1,58 ммоль) маннозида (IV) и 656 мг (2,38 ммоль) карбоната серебра перемешивали 30 мин с 2 г молекулярных сит 4 Å (Union Carbide) в 6 мл абс. толуола. Затем к смеси при перемешивании медленно добавляли по каплям раствор 1,07 г (2,38 ммоль) рамнозилбромида (XIV) [4] в 6 мл абс. толуола. Смесь перемешивали 24 ч, контролируя ход реакции ТСХ (система В). Затем к реакционной смеси добавляли 656 мг карбоната серебра и 1,07 г гликозилбромида (XIV) в 6 мл абс. толуола и перемешивали еще 24 ч, после чего смесь фильтровали через слой силикагеля. Фильтрат упаривали, остаток (2,477 г) хроматографировали, элюируя градиентом ацетона (0→5%) в бензоле. Выделили 580 мг (выход 43%) хроматографически однородного (2-бензилоксикарбониламиноэтил)-2-О-(3-О-ацетил-2,4-ди-О-бензил- β -L-рамнопиранозил)-3-О-бензил-4,6-О-изопропилиден- α -D-маннопиранозид (XV) с R_f 0,55, $[\alpha]_D^{20} +55,4^\circ$ (с 0,96, CDCl_3). Спектр ^1H -ЯМР (CDCl_3): 1,36 (д, 3H, $J_{3,6}$ 6,2, H6, Rha), 1,45 и 1,47 [с, 2×3H, C(CH_3)₂], 1,90 (с, 3H, COCH_3), 3,29 (дк, 1H, $J_{3,6}$ 6,2, $J_{4,5}$ 9,2, H5, Rha), 3,38–3,55 (м, 2H, CH_2N), 3,62 [т, 1H, $J_{4,5} \approx J_{3,4} = 9,5$, H4, Rha; перекрывается с сигналом (м, 1H, H5, Man)], 3,70–3,90 (м, 5H, H3, H6_A и H6_B, Man, OCH_2 агликона), 4,01 (дд, 1H, $J_{1,2}$ 1,5, $J_{2,3}$ 3,0, H2, Man), 4,06 (д, 1H, $J_{2,3}$ 3,2, H2, Rha), 4,15 (т, 1H, $J_{4,5} \approx J_{3,4} \approx 9,5$, H4, Man), 4,62 (с, 1H, $J_{1,2} < 1,0$, H1, Rha), 4,62 и 4,74 (2д, 2×1H, $J_{\text{H, Hgem}}$ 12,5, $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 4,63 и 4,70 (2д, 2×1H, $J_{\text{H, Hgem}}$ 11,5, $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 4,73 (дд, 1H, $J_{2,3}$ 3,2, $J_{3,4}$ 9,5, H3, Rha), 4,90 и 4,98 (2д, 2×1H, $J_{\text{H, Hgem}}$ 12,5, $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 4,98 (д, 1H, $J_{1,2}$ 1,5, H1, Man), 5,15 (с, 2H, $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 7,20–7,50 (м, 20H, ароматич. H). Спектр ^{13}C -ЯМР (CDCl_3): 128,4–127,4 (ароматич. С), 102,1 (C1, $J_{\text{C1, H1}}$ 159, Rha), 100,8 (C1, Man, $J_{\text{C1, H1}}$ 174), 99,8 [$\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 78,4 (C4, Rha), 76,8; 76,5; 75,6 (2C), 71,86; 71,76; 65,2 (C5, Man), 62,6 (C6, Man), 75,2; 74,8; 73,3; 67,0 и 66,8 (4× $\text{OCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$, OCH_2), 40,9 (CH_2N), 29,4 и 19,2 [$\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 21,0 (COCH_3), 18,0 (C6, Rha).

При дезацетилировании защищенного дисахарида (XV) по Земплону выделили хроматографически однородный рамнозилманнозид (XVI) (выход 99%), $[\alpha]_D^{20} +37,9^\circ$ (с 1,19, CHCl_3), R_f 0,45 (В). Спектр ^{13}C -ЯМР (CDCl_3): 139,2; 138,7; 128,6–127,4 (ароматич. С), 102,9 (C1, $J_{\text{C1, H1}}$ 159, Rha), 100,8 (C1, $J_{\text{C1, H1}}$ 175, Man), 99,8 [$\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 82,0 (C4, Rha), 77,8; 77,2; 76,5; 74,0; 71,9; 71,6; 65,2 (C5, Man), 62,6 (C6, Man), 75,2; 75,0; 73,4; 66,9 (2C) (4× $\text{OCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$, OCH_2), 41,0 (CH_2N), 29,4 и 19,2 [$\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 18,1 (C6, Rha).

(2-Бензилоксикарбониламиноэтил)-2-О-(2,4-ди-О-бензил- β -и- α -L-рамнопиранозил)-3,4,6-три-О-бензил- α -D-маннопиранозиды (XVII) и (XVIII). Смесь 1,347 г (2,15 ммоль) три-О-бензилманнозида (X) и 890 мг (3,23 ммоль) карбоната серебра в 40 мл абс. толуола перемешивали 30 мин под аргоном с 2 г молекулярных сит 4 Å. Затем к смеси при перемешивании медленно добавляли по каплям раствор 1,45 г (3,23 ммоль) гликозилбромида (XIV) в 20 мл абс. толуола. Смесь перемешивали 24 ч, контролируя ход реакции ТСХ (система В). К смеси добавляли еще 890 мг карбоната серебра и раствор 1,45 г бромида (XIV) в 20 мл абс. толуола и про-

должны были перемешивать 24 ч, затем смесь фильтровали через слой силикагеля и упаривали. Остаток (1,55 г) хроматографировали, элюируя градиентом ацетона (0→5%) в бензоле. Выделили 877 мг хроматографически однородного вещества с R_f 0,62, $[\alpha]_D^{20} +23,6^\circ$ (с 1,75, CHCl_3), которое, по данным спектра ^{13}C -ЯМР, представляло собой смесь β - и α -аномеров в соотношении 2 : 1. Смесь дезацетилировали по Земплену (0,1 н. раствор метилата натрия в метаноле, 1 ч при 20°С; хроматографическая подвижность продукта реакции изменилась незначительно) и разделили методом ВЭЖХ при элюировании смесью гексан — этилацетат, 4 : 1. Выделили 486 мг (выход 24%) β -дисахарида (XVII), $[\alpha]_D^{20} +33,7^\circ$ (с 2,34, CHCl_3), R_f 0,57 (В) и 226 мг (выход 11%) α -дисахарида (XVIII), $[\alpha]_D^{20} -17,5^\circ$ (с 1,13, CHCl_3), R_f 0,51 (В). Спектр ^{13}C -ЯМР* β -дисахарида (XVII) (CDCl_3): 138,4—138,1 и 128,5—127,2 (ароматич. С), 102,1 (C1, Rha, $J_{\text{C}_1, \text{H}_1}$ 156), 99,8 (C1, Man, $J_{\text{C}_1, \text{H}_1}$ 173), 81,9 (C4, Rha), 80,2* (C2, Rha), 77,3* (C3, Man), 76,7; 74,4; 72,1; 71,9 и 71,4 (C3, C5, Rha, C2, C4, C5, Man), 75,0 (2C), 74,9; 73,2, 72,6; 69,0; 67,6 и 66,6 ($6 \times \text{OCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$, OCH_2 , C6, Man), 40,9 (CH_2N), 18,0 (C6, Rha). Спектр ^{13}C -ЯМР α -дисахарида (XVIII) (CDCl_3): 158,4 (C=O), 138,8—137,9 и 128,6—127,3 (ароматич. С), 97,5 и 95,8 (2C1, $J_{\text{C}_1, \text{H}_1}$ 166), 82,2 (C4, Rha), 79,1* (C3, Man), 78,4* (C2, Rha), 74,6; 72,2 (2C), 71,4 (C3, Rha, C2, C4, C5, Man), 67,6 (C5, Rha), 75,0; 74,8; 73,5; 73,3; 71,9; 69,1; 67,9 и 66,8 ($6 \times \text{OCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$, OCH_2 и C6, Man), 40,9 (CH_2N), 18,0 (C6, Rha).

(2-Бензилоксикарбониламиноэтил)-2-О-[2,4-ди-О-бензил-3-О-(3,6 - дидезокси-2,4-ди-О-п-нитробензоил- α -D-ксило-гексопиранозил)- β -L-рамнопиранозил]-3-О-бензил-4,6 - О-изопропилиден- α -D-маннопиранозид (XXI). Смесь 108 мг (0,132 ммоль) дисахаридного агликона (XVI), 50 мг (0,198 ммоль) цианида ртути, 71,4 мг (0,198 ммоль) бромида ртути в 2 мл абс. дихлорметана перемешивали с 200 мг молекулярных сит 4 Å. К смеси добавляли по каплям раствор 100 мг (0,198 ммоль) абеквозилбромид (XIX) [12] в 2 мл абс. дихлорметана, затем смесь перемешивали 16 ч в темноте, контролируя ход реакции ТСХ (система М). Смесь нейтрализовали 200 мкл триэтиламина, разбавляли 50 мл толуола и промывали 1 н. раствором KI, содержащим NaHCO_3 (2×100 мл), водой (2×100 мл), сушили и упаривали. Остаток хроматографировали на силикагеле Silpearl, элюируя градиентом эфира (0→10%) в бензоле. Выделили 126 мг (выход 76,5%) хроматографически однородного защищенного трисахарида (XXI), $[\alpha]_D^{20} +83,2^\circ$ (с 1,26, CHCl_3), R_f 0,3 (М). В спектре ^{13}C -ЯМР (CDCl_3) содержатся характеристические сигналы: 102,6 (C1, Rha), 100,6 (C1, Man), 99,75 ($[\text{C}(\text{CH}_3)_2]$), 90,9 (C1, Abe), 64,7 (C6, Abe), 62,4 (C6, Man), 41,0 (CH_2N), 28,8 (C3, Abe), 29,3 и 19,2 ($[\text{C}(\text{CH}_3)_2]$), 18,2 (C6, Rha), 16,2 (C6, Abe).

(2-Бензилоксикарбониламиноэтил)-2-О-[2,4-ди-О-бензил-3-О-(3,6 - дидезокси- α -D-ксило-гексопиранозил)- β -L-рамнопиранозил]-3-О-бензил- α -D-маннопиранозид (XXII). К раствору 126 мг трисахарида (XXI) в 5 мл хлороформа добавляли 500 мкл трифторуксусной кислоты, смесь выдерживали 1 ч при 20°С, контролируя ход реакции ТСХ (система М). Затем смесь упаривали, остаток несколько раз упаривали с толуолом и сушили в вакууме. Получили 108 мг (выход 88,5%) хроматографически однородного (2-бензилоксикарбониламиноэтил)-2-О-[2,4-ди-О-бензил-3-О-(3,6 - дидезокси-2,4-ди-О-п-нитробензоил- α -D-ксило-гексопиранозил)- β -L-рамнопиранозил]-3-О-бензил- α -D-маннопиранозид (XX), $[\alpha]_D^{20} +97,8^\circ$ (с 1,08, CHCl_3), R_f 0,3 (А). В спектре ^{13}C -ЯМР (CDCl_3) содержатся характеристические сигналы: 102,3 (C1, Rha, $J_{\text{C}_1, \text{H}_1}$ 161), 99,9 (C1, Man, $J_{\text{C}_1, \text{H}_1}$ 176), 91,1 (C1, Abe, $J_{\text{C}_1, \text{H}_1}$ 168), 64,7 (C5, Abe), 62,3 (C6, Man), 41,0 (CH_2N), 28,7 (C3, Abe), 18,1 (C6, Rha), 16,2 (C6, Abe).

Продукт дезацетонирования (XX) дезацелировали по Земплену. Хроматографией при элюировании градиентом ацетона (0→20%) в бензоле выделили 82 мг (количественный выход) трисахарида (XXII), $[\alpha]_D^{20}$

* Отнесение сигналов, отмеченных звездочкой, может быть обратным.

+66,0° (с 0,5, CHCl₃), R_f 0,45 (Г). В спектре ¹³C-ЯМР (CDCl₃) имеются характеристические сигналы: 102,1 (C1, Rha), 99,9 (C1, Man), 94,3 (C1, Abe), 63,3 (C2, Abe), 62,4 (C6, Man), 40,9 (CH₂N), 35,5 (C3, Abe), 18,35 (C6, Rha), 16,1 (C6, Abe).

(2-Бензилоксикарбониламиноэтил)-2-О-[2,4-ди-О-бензил-3-О-(3,6-дидезокси-2,4-ди-О-п-нитробензоил-α-D-ксило-гексопиранозил)-β-L-рамнопиранозил]-3,4,6-три-О-бензил-α-D-маннопиранозид (XXIII). Смесь 314 мг (0,33 ммоль) дисахаридного агликона (XVII), 124 мг (0,49 ммоль) цианида ртути и 177 мг (0,49 ммоль) бромиды ртути в 10 мл абс. дихлорметана перемешивали 40 мин с 300 мг молекулярных сит 4 А. Затем к смеси добавляли по каплям раствор 250 мг (0,49 ммоль) абеквозилбромиды (XIX) [12] в 10 мл абс. дихлорметана и перемешивали 16 ч в темноте, контролируя ход реакции ТСХ (система Б). Смесь нейтрализовали 200 мкл триэтиламина, разбавляли 50 мл бензола, фильтровали через слой силикагеля. Фильтрат промывали водой (4×150 мл) и упаривали. Остаток (588 мг) хроматографировали на силикагеле Silpearl, элюируя градиентом эфира (0→10%) в бензоле. Выделили 265 мг (выход 58%) хроматографически однородного защищенного трисахарида (XXIII), [α]_D²⁰ +74,7° (с 0,68, CHCl₃), R_f 0,5 (Б). В спектре ¹³C-ЯМР (CDCl₃) содержатся характеристические сигналы: 102,1 (C1, Rha), 99,8 (C1, Man), 90,8 (C1, Abe), 67,9 (C4, Abe), 64,7 (C5, Abe), 41,1 (CH₂N), 28,8 (C3, Abe), 18,2 (C6, Rha), 16,2 (C6, Abe).

(2-Бензилоксикарбониламиноэтил)-2-О-[2,4-ди-О-бензил-3-О-(3,6-дидезокси-α-D-ксило-гексопиранозил)-β-L-рамнопиранозил]-3,4,6-три-О-бензил-α-D-маннопиранозид (XXIII) дезацилировали по Земплеру в стандартных условиях. Хроматографией при элюировании смесью бензол — ацетон, 4 : 1, выделили 207 мг (выход 99,5%) хроматографически однородного трисахарида (XXIV), [α]_D²⁰ +60,5° (с 0,77, CHCl₃), R_f 0,3 (А). В спектре ¹³C-ЯМР (CDCl₃) имеются характеристические сигналы: 102,4 (C1, Rha), 99,9 (C1, Man), 93,4 (C1, Abe), 63,3 (C2, Abe), 41,1 (CH₂N), 35,6 (C3, Abe), 18,1 (C6, Rha), 16,1 (C6, Abe).

(2-Акриламидоэтил)-2-О-[3-О-(3,6-дидезокси-α-D-ксило-гексопиранозил)-β-L-рамнопиранозил]-α-D-маннопиранозид (XXVI). а. 77 мг (0,071 ммоль) частично защищенного трисахарида (XXIV) гидрировали 8 ч в 4 мл уксусной кислоты в присутствии 100 мг 10% палладия на угле до полного исчезновения исходного и появления продукта реакции (XXV) с R_f 0,25 (ТСХ, система Н), содержащего свободную аминогруппу (положительная реакция с нипгидрином). Катализатор отделяли фильтрованием, промывали метанолом, фильтрат концентрировали до объема 1 мл и наносили на колонку (1×10 см) с катионитом КУ-2 (Н⁺). Колонку промывали дистиллированной водой и затем 10% водным аммиаком вымывали аминоктилгликозид (XXV). При упаривании аммиачного элюата получили 37,5 мг аминоктилгликозида (XXV).

Аминоктилгликозид (XXV) N-ацилировали акрилоилхлоридом (8,4 мкл, 1,45 экв. по отношению к аминоктилгликозиду) в 2 мл смеси метанол — вода, 8 : 1, при перемешивании с 0,5 мл двуэкса 1×8 (НСО₃⁻). Через 30 мин, по данным ТСХ (система Н), исходный амин (XXV) с R_f 0,25 исчез и появился продукт реакции с R_f 0,57, содержащий двойную связь (положительная реакция с перманганатом калия). Смесь фильтровали, фильтрат упаривали, остаток хроматографировали методом ВЭЖХ на колонке (4,6×250 мм) с обращенной фазой С-18 (Altex), элюируя 5% метанолом в воде. Выделили 20,1 мг (выход 51%) акриламидоэтилгликозида трисахарида (XXVI) и 3,1 мг (выход 10,2%) (2-акриламидоэтил)-2-О-(β-L-рамнопиранозил)-α-D-маннопиранозид (XXVII).

б. 82 мг (0,09 ммоль) частично защищенного трисахарида (XXII) подвергли гидронолизу в описанных выше условиях. Выделили 44 мг аминоктилгликозида (XXV), который N-акрилоилировали как описано выше. Методом ВЭЖХ выделили 25 мг (выход 50%) акриламидоэтилгликозида трисахарида (XXVI), [α]_D²⁰ +106,0° (с 1,1, CH₃OH), R_f 0,56 (Н) и 3,9 мг

(выход 10%) акриламидоэтилгликозида дисахарида (XXVII), $[\alpha]_D^{20} +71,9^\circ$ (с 0,3, CH_3OH), R_f 0,62 (Н). Спектры ^{13}C -ЯМР см. таблицу.

(2-Бензилоксикарбониламиноэтил)-2-О-[2,4-ди-О-бензил-3-О-(3,6-дидезокси-2,4-ди-О-п-нитробензоил α -и- β -D-ксило-гексопиранозил)- α -L-рамнопиранозил]-3,4,6-три-О-бензил- α -D-маннопиранозиды (XXVIII) и (XXIX). Смесь 114 мг (0,12 ммоль) дисахаридного агликона (XVIII), 50 мг (0,18 ммоль) цианида ртути и 65 мг (0,18 ммоль) бромиды ртути в 4 мл абс. дихлорметана перемешивали 30 мин с 200 мг молекулярных сит 4 Å под аргоном. Затем к смеси добавляли раствор 92 мг (0,18 ммоль) абеквозпбромиды (XIX) в 4 мл дихлорметана и перемешивали 20 ч в темноте, контролируя ход реакции ТСХ (система М). Смесь разбавляли 25 мл бензола, фильтровали через слой силикагеля. Фильтрат промывали 1 л раствором KI (2×50 мл), насыщенным водным раствором NaHCO_3 (2×25 мл), водой (2×25 мл), сушили и упаривали. Остаток (327 мг) хроматографировали, элюируя смесью бензол — эфир, 96 : 4. Выделенную смесь аномерных трисахаридов разделяли методом ВЭЖХ на колонке (25×250 мм) с Silasorb 600 (10 мкм) при элюировании смесью гептан — этилацетат, 7 : 3. Выделили 104 мг (выход 63%) защищенного трисахарида (XXVIII), $[\alpha]_D^{20} +50^\circ$ (с 1,3, CHCl_3), R_f 0,37 (М), и 50 мг (выход 30%) изомерного трисахарида (XXIX), $[\alpha]_D^{20} -18,7^\circ$ (с 0,4, CHCl_3), R_f 0,34 (М).

В спектре ^{13}C -ЯМР (CDCl_3) трисахарида (XXVIII) содержатся характеристические сигналы: 97,2 и 95,6 (2C_1 , Rha, Man, $J_{\text{C}_1, \text{H}_1}$ 166), 91,5 (C_1 , Abe, $J_{\text{C}_1, \text{H}_1}$ 173,3), 64,5 (C_5 , Abe), 40,9 (CH_2N), 28,7 (C_3 , Abe), 18,1 (C_6 , Rha), 16,1 (C_6 , Abe).

В спектре ^{13}C -ЯМР (CDCl_3) трисахарида (XXIX) имеются характеристические сигналы: 103,1 (C_1 , Abe, $J_{\text{C}_1, \text{H}_1}$ 161,1), 97,9 ($J_{\text{C}_1, \text{H}_1}$ 168,5) и 97,4 ($J_{\text{C}_1, \text{H}_1}$ 170,9) (2C_1 , Rha, Man), 40,9 (CH_2N), 33,3 (C_3 , Abe), 17,9 (C_6 , Rha), 16,7 (C_6 , Abe).

(2-Бензилоксикарбониламиноэтил)-2-О-[2,4-ди-О-бензил-3-О-(3,6-дидезокси- α -D-ксило-гексопиранозил)- α -L-рамнопиранозил]-3,4,6-три-О-бензил- α -D-маннопиранозид (XXX). 127 мг полностью защищенного трисахарида (XXVIII) омыляли по Земплену в стандартных условиях. Хроматографией при элюировании смесью хлороформ — ацетон, 9 : 1, выделили 98 мг (выход 98%) частично защищенного трисахарида (XXX), $[\alpha]_D^{20} 0^\circ$ (с 0,98, CHCl_3), R_f 0,45 (Д). В спектре ^{13}C -ЯМР (CDCl_3) имеются характеристические сигналы: 97,5 ($J_{\text{C}_1, \text{H}_1}$ 166) и 96,0 ($J_{\text{C}_1, \text{H}_1}$ 168,5) (2C_1 , Rha, Man), 95,5 (C_1 , Abe, $J_{\text{C}_1, \text{H}_1}$ 168,7), 63,6 (C_2 , Abe), 41,4 (CH_2N), 35,7 (C_3 , Abe), 18,3 (C_6 , Rha), 16,1 (C_6 , Abe).

(2-Акриламидоэтил)-2-О-[3-О-(3,6-дидезокси- α -D-ксило-гексопиранозил)- α -L-рамнопиранозил]- α -D-маннопиранозид (XXXI). 145 мг (0,134 ммоль) частично защищенного трисахарида (XXX) подвергали гидронолизу в 4 мл уксусной кислоты в присутствии 100 мг 10% палладия на угле. Через 10 ч после исчезновения исходного (данные ТСХ, система Н) и появления продукта реакции с R_f 0,27 (Н), содержащего аминогруппу (положительная реакция с нингидрином), смесь фильтровали, осадок промывали метанолом, фильтрат упаривали. Остаток (66 мг) без дополнительной очистки ацилировали 15 мкл (1,38 экв. по отношению к аминоэтилгликозиду) акрилоилхлорида в 2 мл смеси метанол — вода, 8 : 1, при перемешивании с 0,5 мл дауэкса 1×8 (HCO_3^-). Через 30 мин, по данным ТСХ (система Н), произошло полное превращение аминоэтилгликозида с R_f 0,27 в акриламидоэтилгликозид (XXXI) с R_f 0,68. Смесь фильтровали, фильтрат упаривали и сушили в вакууме. Получили 68 мг (выход 92%) хроматографически однородного акриламидоэтилгликозида (XXXI), $[\alpha]_D^{20} +34,5^\circ$ (с 1,1, CH_3OH), R_f 0,68. Спектр ^{13}C -ЯМР — см. таблицу.

Сополимеризация углеводовных мономеров (XXVI), (XXVII) и (XXXI) с акриламидом. Раствор 40 мг (0,072 ммоль) углеводного мономера (XXVI) и 36 мг (0,507 ммоль) акриламида в 1 мл дистиллированной воды деаэрировали 10—15 мин в вакууме водоструйного насоса, затем под аргоном добавляли 2 мкл N,N,N',N'-тетраметилэтилендиамина и 1 мг персульфата аммония. Смесь перемешивали 12 ч при 20° С под аргоном, затем за-

густевшую смесь разбавляли 1 мл пиридин-ацетатного буфера (pH 5,0) и фракционировали на колонке (2×35 см) с сефадексом G-50 (V_0 45 мл) при элюировании пиридин-ацетатным буфером, собирая фракции по 4,5 мл. Анализ фракций проводили с помощью реагента фенол-серная кислота [16]. Фракции, содержащие полимер, объединяли, упаривали, остаток несколько раз уваривали с водой и лиофилизировали из малого объема. Получили 72,5 мг (выход 95%) сополимера (XXXII), $[\alpha]_D^{23} +49^\circ$ (с 1,0, вода).

Аналогичным образом при сополимеризации 68 мг (0,123 ммоль) углеводного мономера (XXXI) и 60,5 мг (0,852 ммоль) акриламида выделили 116,3 мг (выход 90,5%) сополимера (XXXIII), $[\alpha]_D^{30} +16,2^\circ$ (с 1,0, вода). Сополимеризация 7,3 мг (0,017 ммоль) углеводного мономера (XXVII) и 8,5 мг (0,120 ммоль) акриламида привела к 12 мг (выход 76%) сополимера (XXXIV), $[\alpha]_D^{29} +22,4^\circ$ (с 1,0, вода).

Спектры ^{13}C -ЯМР сополимеров (XXXII) и (XXXIII) — см. таблицу.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Hellergvist C. G., Hoffman J., Lindberg A. A., Lindberg B., Svensson S.* // Acta chem. scand. 1972. V. 26. № 8. P. 3282–3286.
2. *Hellergvist C. G., Lindberg B., Lönngren J., Lindberg A. A.* // Acta chem. scand. 1971. V. 25. № 2. P. 601–606.
3. *Lindberg A. A., Le Minor L.* // Methods Microbiol. 1984. V. 15. P. 1–141.
4. *Черняк А. Я., Демидов И. В., Карманова И. Б., Черняк Н. В., Кочетков Н. К.* // Биоорган. химия. 1989. Т. 15. № 1. С. 111–122.
5. *Nashed M. A., Anderson L.* // Tetrahedron Lett. 1976. № 39. P. 3503–3506.
6. *King R. R., Cooper F. P., Bishop C. T.* // Carbohydr. Res. 1977. V. 55. P. 83–93.
7. *Copeland C., Stick R. V.* // Aust. J. Chem. 1978. V. 31. № 6. P. 1371–1374; *Gelas J., Norton D.* // Carbohydr. Res. 1978. V. 67. № 2. P. 371–387.
8. *Buchanan J. G., Chancón-Fuertes M. E., Edgar A. R., Moorhouse S. J., Rawson D. I., Wightman R. H.* // Tetrahedron Lett. 1980. № 21. P. 1793–1796.
9. *Черняк А. Я., Антонов К. В., Кочетков Н. К.* // Биоорган. химия. 1989. Т. 15. № 8. С. 1113–1128.
10. *Fügedi P., Garegg P. J.* // Carbohydr. Res. 1986. V. 149. № 1. P. c9–c12.
11. *Kamiya S., Esaki S., Shiba N.* // Agric. Biol. Chem. (Japan). 1987. V. 51. № 8. P. 2207–2214.
12. *Chernyak A. Ya., Levinsky A. B., Dmitriev B. A., Kochetkov N. K.* // Carbohydr. Res. 1984. V. 128. № 2. P. 269–282.
13. *Paulsen H., Hufziger A., van Boeckel C. A. A.* // Ann. 1988. № 5. S. 419–426.
14. *Черняк А. Я., Левинский А. Б., Кочетков Н. К.* // Биоорган. химия. 1988. Т. 14. № 8. С. 1047–1058.
15. *Ravenscroft M., Roberts R. M. G., Tillelt J. G.* // J. Chem. Soc. Perkin Trans. II. 1982. № 12. P. 1569–1572.
16. *Dabois M., Gilles K. A., Hamilton J. K., Rebers P. A., Smith F.* // Analyt. Chem. 1956. V. 28. № 3. P. 350–356.

Поступила в редакцию
6.III.1989

SYNTHESIS OF THE TRISACCHARIDE FRAGMENT FROM O-SPECIFIC POLYSACCHARIDES OF *SALMONELLA* (SEROLOGICAL GROUPS C₂ AND C₃) AND ITS CONVERSION INTO THE ARTIFICIAL ANTIGEN OF COPOLYMER TYPE

CHERNYAK A. YA., DEMIDOV I. V., KOCHETKOV N. K.

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

Abecquosyl-($\alpha 1 \rightarrow 3$)-L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-D-mannopyranosides anomeric in the rhamnose residue have been synthesised. 2-Benzoyloxycarbonylaminoethyl group used as the aglycon can be transformed into 2-acrylamidoethyl aglycon in the final stages of the syntheses. These isomeric α -glycosides were converted into copolymer artificial antigens, which are of interest for studying immunochemistry of factor O:8 of *Salmonella* O-antigens (serological groups C₂ and C₃).