



УДК 547.458.22.057

© 1990 г.

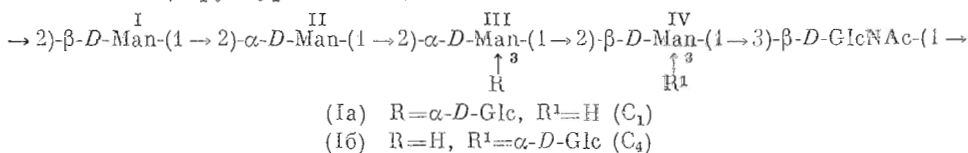
*А. Я. Черняк, И. В. Демидов, Н. К. Кочетков*

## СИНТЕЗ (2-АКРИЛАМИДОЭТИЛ)-3-О-( $\alpha$ -D-ГЛЮКОПИРАНОЗИЛ)- И 2-О-АЦЕТИЛ- $\alpha$ -D-ГЛЮКОПИРАНОЗИЛ)- $\alpha$ -D-МАННОПИРАНОЗИДОВ И ИСКУССТВЕННЫХ АНТИГЕНОВ НА ИХ ОСНОВЕ

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

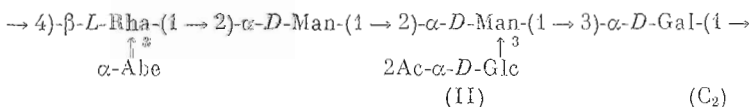
Описан синтез (2-акриламидоэтил)- $\alpha$ -гликозидов 3-О-( $\alpha$ -D-глюкопиранозил)-D-маннопиранозы и 3-О-(2-О-ацетил- $\alpha$ -D-глюкопиранозил)-D-маннопиранозы. Ключевой стадией синтезов является гликозилирование (2-бензилоксикарбониламиноэтил)-2,4,6-три-О-бензил- $\alpha$ -D-маннопиранозиды 2-О-аллил-3,4,6-три-О-бензил- $\alpha$ -D-глюкопиранозилхлоридом по методу Игарашы. Использование аллильной группы в качестве временной защитной группы позволило ввести 2-О-ацетильную группу в остаток глюкозы. Полученные 2-акриламидоэтилгликозиды превращены в искусственные антигены сополимерного типа, представляющие интерес для изучения иммунохимии фактора О:6 О-антигенов сальмонелл (серологические группы С и Н).

Повторяющиеся звенья (Ia) и (Iб) линейной цепи О-антигенных полисахаридов сальмонелл серологических групп С<sub>1</sub> (О:6, 7) [1] и С<sub>4</sub> (О:6, 7, 14) [2] состоят из одного остатка N-ацетил-D-глюкозамина и 4 остатков D-маннозы, причем один из остатков маннозы (Man III в группе С<sub>1</sub> или Man IV в группе С<sub>4</sub>) замещен остатком  $\alpha$ -D-глюкозы по положению 3 (структуры Ia и Iб).



С наличием глюкозного заместителя связывают антигенную специфичность О:6, причем различают О:6<sub>1</sub>- и О:6<sub>2</sub>-специфичности [3]. Предположительно гликозилирование остатка маннозы-III служит основой детерминанты О:6<sub>2</sub> [3].

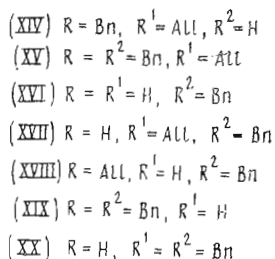
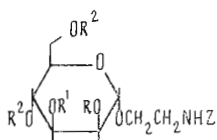
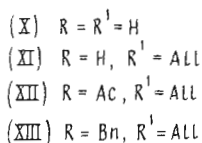
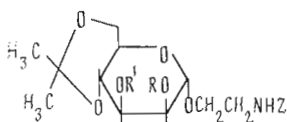
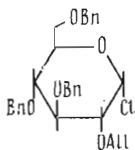
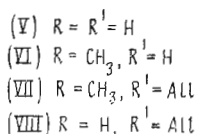
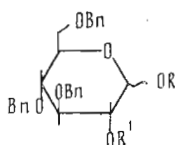
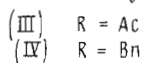
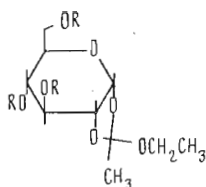
Для штаммов сальмонелл серологической группы С<sub>2</sub> (О:6, 8) характерна О:6<sub>1</sub>-антигенная детерминанта [3], с которой может быть связано присутствие фрагмента глюкозил-( $\alpha$ 1 $\rightarrow$ 3)-маннозы в структуре (II) О-антигенов этих штаммов:



причем, по данным [4], остаток глюкозы несет О-ацетильную группу в положении 2.

Антигенная специфичность О:6 типична также для сальмонелл серологической группы Н (О:6, 14; О:6, 14, 24), О-специфическая цепь которых может включать фрагмент  $\alpha$ -D-Glc-(1 $\rightarrow$ 3)-D-Man [5]. Однако бактерии этой серологической группы не агглютинируются антисыворотками со

Сокращения: Abe — абеквоза (3,6-дидезокси-D-ксило-гексопираноза), Алл — аллил, Вн — бензил, Z — бензилоксикарбонил, ДВО — 1,4-дизабицикло[2,2,2]октан, ТЕМЕД — N,N,N',N'-тетраметилэтилендиамин, DMF — диметилформамид.



специфичностью O : 6<sub>1</sub> или O : 6<sub>2</sub>, что указывает на существование и других субфакторов O : 6 [3].

Для изучения иммунохимии фактора O : 6 сальмонелл и установления химических структур антигенных детерминант в рамках этого фактора полезными могут оказаться синтетические олигосахаридные фрагменты и искусственные антигены на их основе. В связи с этим мы осуществили и описываем синтез глюкозил-(α1→3)-маннозы и 2-О-ацетилглюкозил-(α1→3)-маннозы в форме 2-(акриламидо)этил-α-гликозидов, легко превращаемых в искусственные антигены методом сополимеризации, как это было описано нами [6, 7] и рядом других авторов [8–10].

Использование несочаствующей 2-О-аллильной группы в качестве временной защитной группы в глюкозном синтоне (VIII) связано с необходимостью создания 1,2-цис-гликозидной связи [11] и введения 2-О-ацетильной группы (по аналогии с работой [12]) на заключительных стадиях синтеза. В качестве постоянных защитных групп использованы бензил-льные группы, удаляемые в условиях каталитического гидрогенолиза, позволяющих сохранить относительно лабильную и склонную к миграции О-ацетильную группу. Из этих же соображений в качестве защитной функции в агликоне использована N-бензилоксикарбонильная группа.

Гликозилирующий компонент (IX) синтезировали по описанным методикам. Постоянные защитные группы в глюкозный синтон вводили бензилированием 1,2-этилортоацетата (III) [13] по методике [14]. Последующее удаление ортоэфирной группировки в полученной 3,4,6-три-О-бензил-1,2-О-этилортоацетил-α-D-глюкопиранозе (IV) кислотным гидро-

Данные спектров  $^{13}\text{C}$ -ЯМР производных D-глюкопиранозы ( $\delta$ , м.д.;  $J$ , Гц) <sup>а</sup>

Соединение	Аномер	C1 ( $J_{\text{C1, H1}}$ )	C2	C3	C4	C5	C6	OCH <sub>2</sub>	$\underline{\text{C}}\text{H}=\text{CH}_2$	$\text{CH}=\underline{\text{C}}\text{H}_2$	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>
(V) <sup>б</sup>	$\alpha$	92,6 (170,9)	72,9	82,6	77,85	70,8	69,0					75,2; 74,9; 73,7
	$\beta$	96,9 (163,5)	75,0*	84,5	77,85	75,4*	69,0					75,2; 74,9; 73,7
(VI) <sup>в</sup>	$\alpha$	99,5 (168,5)	73,0	83,3	77,6*	70,5	68,7				55,4	75,0; 74,9; 73,5
	$\beta$	103,8 (158,7)	74,65*	84,6	77,7*	75,2	69,0				57,0	75,0; 74,9; 73,5
(VII)	$\alpha$	98,3 (170,9)	79,95	82,2	77,8	70,25	68,7	72,7	134,9	117,9	55,2	75,8; 75,1; 73,6
	$\beta$	104,65 (158,7)	82,1	84,8	77,9	75,0	69,1	73,6*	135,2	117,0	57,1	75,8; 75,1; 73,7*
(VIII) <sup>г</sup>	$\alpha$	91,5 (168,5)	80,1	84,8	77,7	70,5	68,7	72,5	134,6	118,0		75,8; 75,4; 73,6
	$\beta$	97,5 (163,6)	83,1	84,8	77,7	75,4	69,0	72,5	134,6	118,0		75,8; 75,4; 73,6

<sup>а</sup> Спектры сняты в CDCl<sub>3</sub>; отнесение сигналов, отмеченных звездочкой, может быть обратным.

<sup>б</sup> Соотношение  $\alpha$ - и  $\beta$ -аномеров  $\sim 2:1$ .

<sup>в</sup> Соотношение  $\alpha$ - и  $\beta$ -аномеров  $\sim 1:1$ .

<sup>г</sup> Соотношение  $\alpha$ - и  $\beta$ -аномеров  $\sim 2:1$ .

лизом и метанолиз образовавшегося диола (V) привели с высоким выходом к аномерной смеси метилгликозидов (VI) [14]. С целью повышения выхода глюкозного синтона (VIII) в реакцию алкилирования аллилбромидом в DMSO в присутствии гидрида натрия в отличие от методики [14] вводили смесь аномеров (VI). Полученную с выходом 89% аномерную смесь 2-О-аллилгликозидов (VII) подвергали гидролизу 0,2 н. раствором HCl в уксусной кислоте. С выходом 72% выделили глюкозный синтон (VIII) [15], который действием реагента Вильсмайера (оксалилхлорид и DMF в дихлорметане) перевели в глюкозилхлорид (IX) [15], использованный далее в гликозидном синтезе без дополнительной очистки. Строение соединений (III)–(VIII) подтверждено данными спектров  $^{13}\text{C}$ -ЯМР (табл. 1).

Для получения гликозилируемого компонента (XIX) вначале мы использовали маннозный синтон (X), описанный нами ранее [16]. Кипячение диола (X) с дибутилоловооксидом в абс. метаноле [17] и последующее избирательное алкилирование полученного станилиденевого комплекса аллилбромидом в ацетонитриле в присутствии диизопропилэтиламина привело к 3-О-аллил-4,6-О-изопропилиденманнозиду (XI) с высоким выходом. Алкилирование в положении 3 подтверждается данными  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектроскопии: в спектре продукта ацетилирования (XII) полученного маннозида (XI) сигнал C1 претерпел высокопольный сдвиг (102,0 → 100,6 м.д.) за счет  $\beta$ -эффекта 2-О-ацетилирования. Бензилирование маннозида (XI) действием бензилтрихлорацетимидата по методике [18] привело к полностью защищенному маннозиду (XIII) с выходом 60%.

Удаление изопропилиденевой группировки в маннозиде (XIII) действием трифторуксусной кислоты в хлороформе позволило получить диол (XIV) с практически количественным выходом, однако последующее бензилирование диола (XIV) протекало медленно и приводило к 3-О-аллил-2,4,6-три-О-бензилманнозиду (XV) с низким выходом (28%, общий выход 16%, считая на изопропилиденманнозид (X)). Строение соединений (XI)–(XV) подтверждают данные спектров  $^1\text{H}$ - и  $^{13}\text{C}$ -ЯМР (см. «Экспериментальную часть»).

Избежать двукратной процедуры алкилирования бензилтрихлорацетимидатом позволяет использование маннозного синтона (XVI), также описанного нами ранее [16]. Переведение дибензилманнозида (XVI) в станилиденевоый комплекс и последующее алкилирование привело преимущественно к 3-О-аллил-4,6-ди-О-бензилманнозиду (XVII) с выходом 83%. Кроме того, из реакционной смеси был выделен изомерный 2-О-аллил-4,6-ди-О-бензилманнозид (XVIII) с выходом 8%. Строение изомеров (XVII) и (XVIII) следует из данных спектров  $^{13}\text{C}$ -ЯМР (см. «Экспериментальную часть»). Бензилирование маннозида (XVII) действием бензилтрихлорацетимидата приводит к 3-О-аллил-2,4,6-три-О-бензилманнозиду (XV) с выходом 61% (общий выход 51%, считая на дибензилманнозид (XVI)). При деалкилировании маннозида (XV) по методу [19, 20] кипячением с 10% палладием на угле в кислотных условиях получен маннозный синтон (XIX) (выход 52%), строение которого подтверждают данные спектра  $^{13}\text{C}$ -ЯМР (см. «Экспериментальную часть»).

Более просто маннозный агликон (XIX) может быть получен при частичном бензилировании дибензилманнозида (XVI). При бензилировании маннозида (XVI) действием 2 эквивалентов бензилтрихлорацетимидата в течение 3 ч\* из реакционной смеси были выделены изомерные продукты монобензилирования — (XIX) (выход 26%) и (XX) (выход 19%, этот маннозид был получен и описан нами ранее [16]) — и возвращен 21% исходного диола (XVI). Строение маннозидов (XIX) и (XX) подтверждено данными спектров  $^{13}\text{C}$ -ЯМР (в сравнении со спектром исходного маннозида (XVI)), а в случае маннозного синтона (XIX) — также и данными спектра  $^1\text{H}$ -ЯМР.

\* Увеличение времени реакции приводит к накоплению хроматографически более подвижного компонента с  $R_f$  0,7 (система А), по-видимому, (2-бензилоксикарбониламиноэтил)-2,3,4,6-тетра-О-бензил- $\alpha$ -D-маннопиранозида.

Данные спектров  $^{13}\text{C}$ -ЯМР дисахаридных мономеров и сополимеров на их основе (б, м. д.;  $J$ , Гц) \*

Соединение	Моносахаридное звено	C1 ( $^1J_{\text{C}_1, \text{H}_1}$ )	C2	C3	C4	C5	C6	OCH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> N	CH=CH <sub>2</sub>	CH=CH <sub>2</sub>	COCH <sub>3</sub>
(XXVI)	Glc	101,9 (170,9)	73,1	74,2	70,9	73,6	61,9	67,1	40,3	131,2	128,8	
	Man	100,9 (170,9)	71,2	79,9	67,2	74,2	62,0					
(XXVIII)	Glc	99,35	74,7	71,6	70,7	73,5	61,7	67,1	40,2	131,15	128,8	21,5
	Man	100,9	71,2	80,6	67,0	74,5	62,0					
(XXIX)	Glc	102	73,1	74,2	71,0	73,7	62,0	67,4	40,4			
	Man	100,95	71,2	80,3	67,4	74,2	62,3					
(XXX)	Glc	100,1	74,4	71,3	71,1	73,2	62,3	67,2	40,3			21,7
	Man	101,15	71,25	80,65	67,4	74,2	62,3					

\* Спектры сняты в  $\text{D}_2\text{O}$ ; химические сдвиги: CONH — 180,9,  $\text{CH}_2\text{CH}$  — 43,15—43,5,  $\text{CH}_2\text{CH}$  — 37,2—38,2.

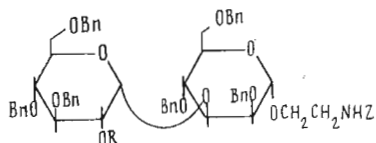
Гликозилирование трибензилманнозида (XIX) 2 эквивалентами глюкозилхлорида (IX) в толуоле в присутствии трифлата серебра (2 эквивалента) и тетраметилмочевины (2 эквивалента) при  $-40-0^\circ\text{C}$  приводит к хроматографически однородному веществу, представляющему собой, по-видимому, смесь дисахаридов (XXI) и (XXII) (общий выход 68%) в соотношении  $\sim 1:1$ . В аномерной области  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектра этой смеси имеются 4 сигнала (101,3; 99,5; 99,0 и 98,1 м.д.) примерно равной интенсивности. Кроме того, аллильная группа представлена удвоенными сигналами ( $\text{CH}_2=\text{CH}$ , 116,4 и 117,3 м.д.;  $\text{CH}_2=\text{CH}$ , 135,0 и 135,5 м.д.).

При проведении конденсации глюкозилхлорида (IX) и маннозида (XIX) по методу Игараши [21] (в абсолютном эфире в присутствии перхлората серебра и 2,4,6-коллидина) удалось добиться селективного  $\alpha$ -гликозилирования. Из реакционной смеси с выходом 63% был выделен только один дисахарид (XXI), строение которого подтверждают данные спектра  $^{13}\text{C}$ -ЯМР, интерпретированного с учетом литературных данных [22].

Деаллилирование дисахаридов (XXI) кипячением с катализатором Уилкинсона и ДВО в водном этаноле [23, 24] с последующим гидролизом действием ацетата ртути в водном ацетоне [25] приводит к моногидроксильному соединению (XXIII) с выходом 81%. Строение дисахаридного производного (XXIII) подтверждают данные спектра  $^{13}\text{C}$ -ЯМР, в частности слабopольный сдвиг сигнала C1 (остаток D-глюкозы) за счет исчезновения  $\beta$ -эффекта 2-O-аллилирования.

Каталитический гидрогенолиз дисахаридов (XXIII) для полного удаления всех защитных групп потребовал довольно жестких условий (уксусная кислота в качестве растворителя, 5 ч при  $50^\circ\text{C}$ ). В результате был получен аминоэтилгликозид (XXV) с высоким выходом. Последующее N-ацелирование аминоэтилгликозида (XXV) акрилоилхлоридом в метаноле в присутствии анионита ( $\text{HCO}_3^-$ -форма) привело к дисахаридному мономеру (XXVI) с выходом 60%.

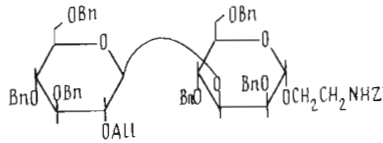
Для получения дисахаридного мономера (XXVIII), включающего остаток 2-O-ацетилглюкозы, дисахаридное производное (XXIII) ацелированием превращали в 2'-O-ацетилдисахарид (XXIV). Для полного удаления N-бензилоксикарбонильной и бензильных защитных групп в этом соединении каталитическим гидрогенолизом потребовалось более длительное нагревание — 10 ч. Полученный аминоэтилгликозид (XXVII) N-акрилоиллировали как описано выше и выделили акриламилоэтилгликозид (XXVIII), содержащий, однако, примесь изомерного биозида с O-ацетильной группой в положении 3(4) остатка глюкозы (данные спектра  $^1\text{H}$ -ЯМР — см. «Экспериментальную часть»). Появление этой примеси свя-



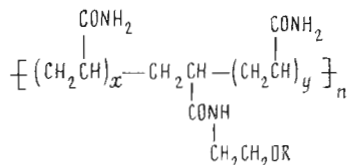
(XXI) R = All

(XXIII) R = H

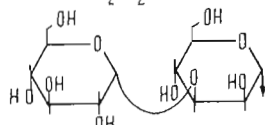
(XXIV) R = Ac



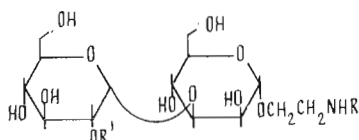
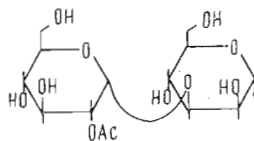
(XXII)



(XXIX) R =



(XXX) R =



(XXV) R = R' = H

(XXVI) R = COCH=CH<sub>2</sub>, R' = H

(XXVII) R = H, R' = Ac

(XXVIII) R = COCH=CH<sub>2</sub>, R' = Ac

зано, по-видимому, с миграцией О-ацетильной группы в жестких условиях гидрогенолиза.

Для очистки дисахаридного мономера (XXVIII) была применена ВЭЖХ (обращенно-фазовый вариант). Строение дисахаридных мономеров (XXVI) и (XXVIII) установлено с помощью спектроскопии <sup>1</sup>H- (см. «Экспериментальную часть») и <sup>13</sup>C-ЯМР (см. табл. 2) с использованием селективного гетероядерного резонанса, а в случае дисахарида (XXVI) — и двумерной спектроскопии <sup>1</sup>H-ЯМР (COSY-эксперимент). α-Конфигурация гликозидной связи следовала из величины J<sub>1,2</sub> 4,0 Гц для сигнала H1 (Glc) в спектрах <sup>1</sup>H-ЯМР обоих мономеров, а также из величины J<sub>C1,H1</sub> 170,9 Гц в спектре <sup>13</sup>C-ЯМР дисахарида (XXVI). Положение О-ацетильной группы в дисахариде (XXVIII) подтверждалось слабопольным сдвигом сигнала H2 (Glc, δ 4,51 м.д.) по сравнению с положением этого сигнала (δ 3,48 м.д.) в спектре <sup>1</sup>H-ЯМР дисахарида (XXVI). Кроме того, за счет β-эффекта 2-О-ацетилирования сигнал C1 (Glc, δ 99,35 м.д.) в спектре <sup>13</sup>C-ЯМР дисахарида (XXVIII) смещен в более сильнопольную область по сравнению с положением этого сигнала (δ 101,9 м.д.) в спектре дисахарида (XXVI).

Для превращения детерминантных дисахаридов (XXVI) и (XXVIII) в искусственные антигены использована радикальная сополимеризация с акриламидом, применявшаяся нами и ранее [16]. Соотношение мономерных звеньев (углеводного мономера и акриламида) в сополимерах (XXIX) и (XXX), выделенных гель-хроматографией на колонке с биоге-лем Р-4, соответствовало их соотношению (1:7) в исходной смеси для проведения полимеризации. Это следует из сравнения интегральных интен-сивностей сигналов мономеров обоих типов в спектрах <sup>13</sup>C-ЯМР каж-дого из сополимеров (XXIX) и (XXX) (см. табл. 2), а также из величин оптического вращения последних.

Данные об использовании полученных искусственных антигенов для изучения иммунохимии фактора 0:6 сальмонелл будут опубликованы отдельно.

Авторы выражают благодарность А. С. Шашкову за съемку спектров-<sup>1</sup>H- и <sup>13</sup>C-ЯМР.

## Экспериментальная часть

ТСХ выполнена на пластинках DC-Alufolien Kieselgel 60F<sub>234</sub> (Merck, ФРГ) с использованием следующих систем растворителей: бензол — ацетон, 4:1 (А), 3:2 (Б) и 9:1 (В), гексан — этилацетат, 4:1 (Г) и 3:2 (Д), хлороформ — ацетон, 4:1 (Е), хлороформ — метанол, 3:2 (Ж), четыреххлористый углерод — эфир, 4:1 (З) и этилацетат — метанол — уксусная кислота — вода, 6:3:3:2 (И). Для обнаружения веществ пластинки погружали в 25% серную кислоту и нагревали на электроплитке. Ампыны обнаруживали опрыскиванием 0,3% раствором нингидрина в этаноле с последующим нагреванием. Соединения, содержащие двойную связь, детектировали опрыскиванием 1% водно-содовым раствором перманганата калия. Препаративное хроматографическое разделение осуществляли на колонках с силикагелем L100/160 мкм (ЧССР). Препаративную ВЭЖХ проводили на колонке (7,1×500 мм) с сорбентом Octadecil Si 100 (10 мкм; Serva, ФРГ) с использованием насоса фирмы Altech (США) и УФ-детектора (254 нм) фирмы Knauer (ФРГ). Спектры <sup>1</sup>H- и <sup>13</sup>C-ЯМР сняты на приборе Bruker WM-250 (ФРГ) с рабочей частотой 250 МГц (протоны) и 62,89 МГц (углерод-13) с внутренним стандартом тетраметилсиланом для растворов в CDCl<sub>3</sub> и (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, а также CH<sub>3</sub>OH (δ 50,15 м.д.) — для растворов в D<sub>2</sub>O. Химические сдвиги приведены в миллионных долях (δ-шкала), КССВ — в герцах. Температуры плавления определены на микроблоке Кофлера, удельное оптическое вращение измерено на поляриметре DIP-360 (Jasco, Япония).

*3,4,6-Три-О-бензил-1,2-О-этилортоацетил-α-D-глюкопираноза (IV)*. 1,07 г (2,845 ммоль) 1,2-этилортоацетата (III) [13] бензилировали 6,09 мл (52,9 ммоль) бензилхлорида как описано [13]. Хроматографией на силикагеле при элюировании градиентом эфира (0→20%) в четыреххлористом углероде выделили 1,02 г (выход 69%) хроматографически однородной трибензил-1,2-О-этилортоацетилглюкопиранозы (IV), [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> +32,3° (с 1,51, CHCl<sub>3</sub>), R<sub>f</sub> 0,4 (З) Лит. данные [26]: [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> +33,2° (с 6,6, CHCl<sub>3</sub>). Спектр <sup>13</sup>C-ЯМР: 138,1; 138,0 и 137,7 (ароматич. С), 127,4—128,3 (ароматич. СН), 120,9 (ортоэфирный С—CH<sub>3</sub>), 97,7 (С1), 78,8; 75,8; 74,9 и 70,5 (С2—С5), 73,2; 72,8 и 71,8 (С3-, С4- и С6-ОСН<sub>2</sub>С<sub>6</sub>Н<sub>5</sub>), 69,2 (С6), 58,4 (ОСН<sub>2</sub>СН<sub>3</sub>), 21,9 (ортоэфирный С—СН<sub>3</sub>), 15,2 (ОСН<sub>2</sub>СН<sub>3</sub>).

*3,4,6-Три-О-бензил-D-глюкопираноза (V)*. К раствору 600 мг (1,15 ммоль) 1,2-этилортоацетата (IV) в 15 мл диоксиана добавляли 1,5 мл 0,5 М водного раствора H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и кипятили 3 ч с обратным холодильником, контролируя ход реакции ТСХ (система Е). Охлажденную смесь нейтрализовали твердым NaHCO<sub>3</sub>, разбавляли хлороформом (50 мл), фильтровали через вату, упаривали и сушили в вакууме. Остаток (660 мг) хроматографировали на силикагеле при элюировании градиентом ацетона (0→30%) в бензоле. Выделили 480 мг (выход 92%) смеси α- и β-аномеров (V) в соотношении ~2:1 (по данным спектра <sup>13</sup>C-ЯМР, см. табл. 1), [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> +44,9° (с 2,0, CHCl<sub>3</sub>), R<sub>f</sub> 0,33 (α-аномер), R<sub>f</sub> 0,25 (β-аномер) (Е).

*Метил-3,4,6-три-О-бензил-D-глюкопиранозид (VI)*. К раствору 416 мг (0,92 ммоль) трибензилглюкозы (V) в 10 мл абс. метанола добавляли 80 мкл ацетилхлорида (для получения 0,5 п. раствора HCl в метаноле). Раствор выдерживали 24 ч при 20°С, контролируя ход реакции ТСХ (А). Затем смесь нейтрализовали насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub>, разбавляли водой (100 мл) и экстрагировали хлороформом (3×25 мл). Объединенный органический слой промывали водой (3×25 мл), фильтровали через вату и упаривали. Получили 400 мг (выход 93%) хроматографически однородной смеси метилгликозидов (VI), [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> +38,9° (с 2,0, CHCl<sub>3</sub>), R<sub>f</sub> 0,53 (А), R<sub>f</sub> 0,7 (Е). Спектр <sup>13</sup>C-ЯМР — см. табл. 1 (соотношение α- и β-аномеров ~1:1).

*Метил-2-О-аллил-3,4,6-три-О-бензил-D-глюкопиранозид (VII)*. Раствор 379 мг (0,82 ммоль) метилгликозида (VI) в 5 мл абс. DMF перемешивали 1 ч с 57 мг (1,9 ммоль) 80% суспензии гидроксида натрия в минеральном масле. Затем смесь охлаждали до 0°С и при перемешивании добавляли

142 мкл (1,64 ммоль) аллилбромид. Смесь перемешивали 3 ч при 20°С, контролируя ход реакции ТСХ (система Г). Избыток гидрида натрия разлагали метанолом, смесь упаривали, остаток растворяли в 50 мл дихлорметана. Полученный раствор промывали водой (100 мл), 1% раствором HCl (100 мл), водой (100 мл) и упаривали. Остаток (410 мг) хроматографировали, элюируя системой Г. Выделили 266 мг (выход 65%) β-аномера (VIIβ),  $[\alpha]_D^{20} -12,9^\circ$  (с 2,0, CHCl<sub>3</sub>),  $R_f$  0,4 (Г) и 98 мг (выход 24%) α-аномера (VIIα),  $[\alpha]_D^{20} +50,5^\circ$  (с 2,0, CHCl<sub>3</sub>),  $R_f$  0,25 (Г). Лит. данные для (VIIα) [14]:  $[\alpha]_D^{20} +44,5^\circ$  (с 1,2, CHCl<sub>3</sub>). Данные спектров <sup>13</sup>C-ЯМР — см. табл. 1. Спектр <sup>1</sup>H-ЯМР (VIIα): 3,45 (с, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,54 (дд, 1H,  $J_{1,2}$  3,5,  $J_{2,3}$  9,5, H2), 3,66 (т, 1H,  $J_{2,3} \approx J_{3,4} \approx 9,5$ , H3) — перекрывается с сигналом при 3,68 (дд, 1H,  $J_{6a,6b}$  8,0,  $J_{5,6a}$  3,0, H6a), 3,77 (дд, 1H,  $J_{5,6b}$  5,5,  $J_{6a,6b}$  8,0, H6b) — перекрывается с сигналом при 3,78 (м, 1H, H5), 3,97 (т, 1H,  $J_{3,4} \approx J_{4,5} \approx 9,5$ , H4), 4,15–4,30 (м, 2H, OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4,51 и 4,86 (2д, 2×1H,  $J_{H,H_{гем}}$  11,0, OCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 4,52 и 4,65 (2д, 2×1H,  $J_{H,H_{гем}}$  12,0, OCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 4,81 и 4,97 (2д, 2×1H,  $J_{H,H_{гем}}$  11,0, OCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 4,86 (д, 1H,  $J_{1,2}$  3,5, H1), 5,19–5,35 (м, 2H, OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5,89–6,03 (м, 1H, OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 7,14–7,40 (м, 15H, 3C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>).

Спектр <sup>1</sup>H-ЯМР (VIIβ): 3,35 (дд, 1H,  $J_{1,2}$  7,8,  $J_{2,3}$  8,5, H2), 3,49 (ддд, 1H,  $J_{4,5}$  9,2,  $J_{5,6a}$  4,5,  $J_{5,6b}$  2,0, H5), 3,59 (с, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,60 (несимм. т, 1H,  $J_{3,4}$  8,5,  $J_{4,5}$  9,2, H4), 3,65 (т, 1H,  $J_{2,3} = J_{3,4} = 8,5$ , H3), 3,71 (дд, 1H,  $J_{5,6a}$  4,5,  $J_{6a,6b}$  11,0, H6a), 3,79 (дд, 1H,  $J_{5,6b}$  2,0,  $J_{6a,6b}$  11,0, H6b), 4,19–4,27 (м, 2H, OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4,28 (д, 1H,  $J_{1,2}$  7,8, H1), 4,57 и 4,86 (2д, 2×1H,  $J_{H,H_{гем}}$  10,7, OCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 4,58 и 4,65 (2д, 2×1H,  $J_{H,H_{гем}}$  12,0, OCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 4,82 и 4,98 (2д, 2×1H,  $J_{H,H_{гем}}$  11,0, OCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 5,16–5,37 (м, 2H, OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5,91–6,05 (м, 1H, OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 7,15–7,42 (м, 15H, 3C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>).

2-О-Аллил-3,4,6-три-О-бензил-D-глюкопираноза (VIII). Раствор 4,62 г (9,17 ммоль) аномерной смеси триэфира (VII) в 32 мл уксусной кислоты кипятили 2 ч с 8 мл 1 н. раствора HCl, контролируя ход реакции ТСХ (системы А и Г). Смесь упаривали, остаток растворяли в хлороформе (200 мл). Полученный раствор промывали водой (2×200 мл), насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub> (500 мл), водой (2×200 мл) и упаривали. Сиропобразный остаток (3,81 г) кристаллизовали из метанола, при перекристаллизации выделили 3,25 г (выход 72%) тетра-О-алкилглюкозы (VIII), т. пл. 134–136°,  $[\alpha]_D^{20} +42,3^\circ$  (с 1,6, CHCl<sub>3</sub>),  $R_f$  0,57 (А). Лит. данные [15]: т. пл. 134–136°С (метанол),  $[\alpha]_D^{20} +28^\circ$  (с 1,8, CHCl<sub>3</sub>). Спектр <sup>13</sup>C-ЯМР — см. табл. 1 (примесь β-аномера в спектре объясняется, по-видимому, мутарацией образца в ходе съемки).

(2-Бензилсуктарбониламиноэтил)-3-О-аллил-4,6-О-изопропилиден-α-D-маннопиранозид (XI). Раствор 460 мг (1,16 ммоль) изопропилиденманнозида (X) [16] в 10 мл абс. метанола кипятили 1 ч со 175 мг (0,7 ммоль) дибутилоловооксида до полного растворения последнего. Смесь упаривали, остаток сушили в вакууме масляного насоса. Полученный станилиденный комплекс растворяли в 10 мл абс. ацетонитрила и кипятили 4 ч со 193 мкл (2,23 ммоль) аллилбромид и 152 мкл (0,87 ммоль) диизопропилэтиламина, контролируя ход реакции ТСХ (система Е). Смесь упаривали, остаток хроматографировали, элюируя смесью бензол — ацетон, 9:1. Выделили 490 мг (выход 97%) 3-О-аллилового эфира (XI),  $R_f$  0,5 (Е),  $[\alpha]_D^{20} +33,95^\circ$  (с 0,43, CHCl<sub>3</sub>). В спектре <sup>1</sup>H-ЯМР [(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO] имеются сигналы: 1,30 и 1,45 (с, 2×3H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 3,57 (дд, 1H,  $J_{2,3}$  3,5,  $J_{3,4}$  9,5, H3), 4,00 (дд, 1H,  $J_{1,2}$  1,5,  $J_{2,3}$  3,5, H2), 4,08 (т, 1H,  $J_{3,4} = J_{4,5} = 9,5$ , H4) — перекрывается с сигналом при 4,05–4,20 (м, 2H, OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4,78 (д, 1H,  $J_{1,2}$  1,5, H1), 5,06 (с, 2H, OCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>) — перекрывается с сигналом при 5,03–5,32 (м, 2H, OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5,79–5,95 (м, 1H, OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>).

Спектр <sup>13</sup>C-ЯМР [(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO]: 136,7 (CH=CH<sub>2</sub>), 129,2 и 128,6 (ароматич. С), 116,0 (CH=CH<sub>2</sub>), 102,0 (C1), 100,1 [C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>], 77,1 (C3), 72,0 (C2), 71,6 (C4), 70,4; 67,2 и 66,6 (OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub> и COOCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>). 65,7 (C5), 63,05 (C6), 41,6 (CH<sub>2</sub>N), 29,5 и 19,6 [C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>].



Ацетилированием маннозида (XI) получен 2-ацетат (XII),  $R_f$  0,8 (E). В спектре  $^1\text{H}$ -ЯМР имеются сигналы: 1,42 и 1,55 (2с,  $2 \times 3\text{H}$ ,  $\text{C}(\text{CH}_3)_2$ ), 2,15 (с, 3H,  $\text{COCH}_3$ ), 3,74 (дд, 1H,  $J_{2,3} 3,5$ ,  $J_{3,4} 9,5$ , H3), 4,01 (т, 1H,  $J_{3,4} = J_{4,3} = 9,5$ , H4), 4,11 (м, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 4,73 (д, 1H,  $J_{1,2} 1,5$ , H1), 5,13 (с, 2H,  $\text{OCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ) — перекрывается с сигналами при 5,12–5,35 (м, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ) и при 5,27 (дд, 1H,  $J_{1,2} 1,5$ ,  $J_{2,3} 3,5$ , H2), 5,78–5,95 (м, 1H,  $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ).

(2-Бензилоксикарбонилламиноэтил)-3-О-аллил-2-О-бензил-4,6-О-изопропилиден- $\alpha$ -D-маннопиранозид (XIII). К раствору 550 мг (1,26 ммоль) маннозида (XI) в смеси 2 мл абс. дихлорметана и 8 мл гексана добавляли 440 мкл (2,37 ммоль) бензилтрихлорацетимидата и 1 капилляр (~10 мкл) трифторметансульфокислоты. Смесь перемешивали 18 ч при 20° С, контролируя ход реакции ТСХ (системы А и Д). После исчезновения (в основном) исходного маннозида (XI) с  $R_f$  0,38 (А) и появления продукта реакции с  $R_f$  0,65 (А) смесь нейтрализовали 0,5 мл триэтиламина и разбавляли 100 мл хлороформа. Раствор промывали водой ( $2 \times 200$  мл) и упаривали. Остаток хроматографировали, элюируя градиентом этилацетата (0 → 35%) в гексане. Выделили 400 мг (выход 60%) 2-О-бензильового эфира (XIII),  $[\alpha]_D^{20} + 31,7^\circ$  (с 2,0,  $\text{CHCl}_3$ ),  $R_f$  0,45 (Д). Спектр  $^{13}\text{C}$ -ЯМР: 135,2 ( $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 128,6–127,9 (ароматич. С), 116,4 ( $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 99,9 [ $\text{C}(\text{CH}_3)_2$ ], 99,6 (С1,  $^1J_{\text{C},\text{H}}$  168,5), 76,4\* (С3), 76,7\* (С2), 73,7 ( $\text{C}2-\text{OCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ), 71,8; 67,0 и 66,7 ( $\text{OCH}_2$ ,  $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$  и  $\text{COOCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ), 71,5 ( $\text{C}4$ ), 65,4 (С5), 62, 35 (С6), 40,8 ( $\text{CH}_2\text{N}$ ), 29,4 и 19,5 [ $\text{C}(\text{CH}_3)_2$ ].

(2-Бензилоксикарбонилламиноэтил)-3-О-аллил-2-О-бензил- $\alpha$ -D-маннопиранозид (XIV). К раствору 440 мг (0,835 ммоль) маннозида (XIII) в 8 мл хлороформа добавляли 400 мкл трифторуксусной кислоты. Смесь выдерживали 30 мин при 20° С, контролируя ход реакции ТСХ (системы Б и Д). Затем смесь упаривали, остаток несколько раз упаривали с хлороформом и хроматографировали, элюируя смесью бензол — ацетон, 3 : 2. Выделили 400 мг (выход 98,4%) 3-О-аллил-2-О-бензилманнозида (XIV),  $[\alpha]_D^{20} + 9,0^\circ$  (с 2,3,  $\text{CHCl}_3$ ),  $R_f$  0,4 (Б). Спектр  $^{13}\text{C}$ -ЯМР: 138,0 (ароматич. С), 134,5 ( $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 128,6–127,9 (ароматич. СH), 117,4 ( $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 98,6 (С1), 79,3 (С3), 73,6 (С2), 72,9 ( $\text{C}2-\text{OCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ), 72,7 (С5), 70,6 и 67,0 (2С), ( $\text{OCH}_2$ ,  $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$  и  $\text{COOCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ), 67,2 (С4), 62,8 (С6), 40,7 ( $\text{CH}_2\text{N}$ ).

(2-Бензилоксикарбонилламиноэтил)-3-О-аллил-2,4,6-три-О-бензил- $\alpha$ -D-маннопиранозид (XV). а) К раствору 156 мг (0,32 ммоль) диола (XIV) в 2 мл абс. дихлорметана добавляли до помутнения гексан (5,5 мл) и затем каплю дихлорметана для получения прозрачного раствора. Затем к раствору добавляли 223,4 мкл (1,2 ммоль) бензилтрихлорацетимидата и капилляр трифторметансульфокислоты. Смесь перемешивали при 20° С, контролируя ход реакции ТСХ (система А). Через 12 ч в смеси обнаружили 2 компонента с  $R_f$  0,67 и 0,53 (А). К смеси добавили еще 2 эквивалента (110 мкл) бензилтрихлорацетимидата и капилляр трифторметансульфокислоты. Перемешивание продолжали еще 6 ч, в смеси, по данным ТСХ, присутствовал преимущественно компонент с  $R_f$  0,67. Смесь нейтрализовали триэтиламином, упаривали, остаток хроматографировали при элюировании градиентом эфира (0 → 10%) в бензоле. Выделили 60 мг (выход 28%) 3-О-аллил-трибензилманнозида (XV), идентичного с нижеописанным образцом (XV) по данным спектра  $^{13}\text{C}$ -ЯМР.

б) К раствору 2,415 г (4,185 ммоль) маннозида (XVII) в 10 мл абс. дихлорметана добавляли до помутнения гексан (50 мл) и затем еще несколько капель дихлорметана для получения прозрачного раствора. Затем к смеси добавляли 1,48 мл (7,97 ммоль) бензилтрихлорацетимидата и каплю трифторметансульфокислоты. Смесь перемешивали под аргоном при 20° С, контролируя ход реакции ТСХ (система В). Через 48 ч смесь нейтрализовали 1 мл триэтиламина и упаривали. Остаток (5,1 г) хроматографировали, элюируя градиентом эфира (0 → 10%) в бензоле. Выделили 1,70 г (выход 61%) 3-О-аллил-три-О-бензилманнозида (XV),  $[\alpha]_D^{20} + 14,5^\circ$

\* Отнесение может быть обратным.

(с 1,69,  $\text{CHCl}_3$ ),  $R_f$  0,50 (В). Спектр  $^{13}\text{C}$ -ЯМР: 138,4 и 138,3 (ароматич. С), 134,9 ( $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 128,5–126,0 (ароматич. СН), 116,7 ( $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 98,6 (С1,  $^1J_{\text{C}_1, \text{H}_1}$  172,5), 79,8 (С3), 74,9; 74,7 и 72,1 (С2, С4, С5), 75,2 и 73,4 (С4- и С6- $\text{OCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ), 72,7 (С2- $\text{OCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ), 71,2; 69,3; 67,9 и 66,7 (С6,  $\text{OCH}_2$ ,  $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$  и  $\text{COOCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ), 41,0 ( $\text{CH}_2\text{N}$ ).

(2-Бензилоксикарбониламиноэтил)-3-О-аллил - 4,6-ди-О - бензил- $\alpha$ -D-маннопиранозид (XVII). Раствор 2,81 г (5,23 ммоль) дибензилманнозида (XVI) в 50 мл абс. метанола кипятили 1 ч с 0,78 г (3,13 ммоль) дибутил-оловоксида до растворения последнего. Смесь упаривали, остаток сушили в вакууме масляного насоса. Полученный станнилиденный комплекс растворяли в 50 мл ацетонитрила и кипятили 5 ч с 1,3 мл (15 ммоль) аллил-бромид, 2,04 мл (11,7 ммоль) диизопропилэтиламина и 4 мл абс. DMF, контролируя ход реакции ТСХ (система Е). После исчезновения исходного маннозида (XVI) с  $R_f$  0,25 и появления продуктов реакции с  $R_f$  0,60 (главный компонент) и  $R_f$  0,72 (минорный компонент) реакционную смесь упаривали. Остаток хроматографировали при элюировании смесью бензол – ацетон, 9 : 1. Выделили 2,5 г (выход 83%) 3-О-аллилового эфира (XVII),  $R_f$  0,60,  $[\alpha]_D^{20} + 35,9^\circ$  (с 4,83,  $\text{CHCl}_3$ ) и 244 мг (выход 8%) 2-О-аллилового эфира (XVIII),  $R_f$  0,72,  $[\alpha]_D^{20} + 25,6^\circ$  (с 3,05,  $\text{CHCl}_3$ ). Спектр  $^{13}\text{C}$ -ЯМР маннозида (XVII): 138,5; 138,3 и 137,8 (ароматич. С), 134,65 ( $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 128,6–127,3 (ароматич. СН), 117,4 ( $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 99,4 (С1), 79,7 (С3), 75,1 и 73,5 (С4- и С6- $\text{OCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ), 74,3; 71,4 и 68,5 (С2, С4, С5), 71,0; 69,03; 67,4 и 66,7 (С6,  $\text{OCH}_2$ ,  $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$  и  $\text{COOCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ), 41,0 ( $\text{CH}_2\text{N}$ ).

Спектр  $^{13}\text{C}$ -ЯМР маннозида (XVIII): 156,4 (C=O), 138,4; 138,1 и 136,6 (ароматич. С), 134,3 ( $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 128,4–127,5 (ароматич. СН), 117,65 ( $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 97,5 (С1), 78,2 (С2), 76,6 (С4), 74,6 и 73,35 (С4- и С6- $\text{OCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ), 71,6 и 71,3 (С3, С5), 71,9; 69,3; 67,4 и 66,6 (С6,  $\text{OCH}_2$ ,  $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$  и  $\text{COOCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ), 40,9 ( $\text{CH}_2\text{N}$ ).

(2-Бензилоксикарбониламиноэтил)-2,4,6 - три-О-бензил -  $\alpha$ -D-маннопиранозид (XIX). а) Раствор 1,7 г (2,55 ммоль) 3-О-аллил-три-О-бензилманнозида (XV) в 100 мл смеси этилацетат – уксусная кислота – вода, 2 : 1 : 1, кипятили 15 ч с небольшим количеством 10% палладия на угле, контролируя ход реакции ТСХ (система В). После исчезновения исходного маннозида (XV) с  $R_f$  0,5 и появления продукта реакции с  $R_f$  0,45 смесь фильтровали через слой Nyflo Supercel (Serva). Фильтрат упаривали, остаток несколько раз упаривали с толуолом и хроматографировали, элюируя смесью бензол – этилацетат, 9 : 1. Выделили 835 мг (выход 52%) трибензилманнозида (XIX),  $R_f$  0,45 (В),  $[\alpha]_D^{20} + 9,1^\circ$  (с 1,67,  $\text{CHCl}_3$ ). Спектр  $^{13}\text{C}$ -ЯМР идентичен спектру образца (XIX), описанного ниже.

б) К раствору 6,2 г (11,55 ммоль) дибензилманнозида (XVI) в смеси 24 мл абс. дихлорметана и 48 мл гексана добавляли при перемешивании 4,11 мл (22,1 ммоль) бензилтрихлорацетимидата и каплю трифторметансульфокислоты. Смесь перемешивали при 20° С, контролируя ход реакции ТСХ (система А). Через 3 ч смесь нейтрализовали 1 мл триэтиламина и упаривали. Остаток хроматографировали, элюируя градиентом ацетона (0–25%) в бензоле. Выделили 1,9 г (выход 26%) 2,4,6-три-О-бензилманнозида (XIX),  $R_f$  0,55 (А), 1,39 г (выход 19%) 3,4,6-три-О-бензилманнозида (XX),  $R_f$  0,35 (А),  $[\alpha]_D^{20} + 23,3^\circ$  (с 3,8,  $\text{CHCl}_3$ ) (идентичен заведомому образцу маннозида (XX) [16] по данным спектра  $^{13}\text{C}$ -ЯМР) и 1,32 г (выход 21%) исходного дибензилманнозида (XVI).

При кристаллизации 1,9 г маннозида (XIX) из смеси эфир – гептан получили 1,26 г кристаллического маннозида (XIX), т. пл. 98–100° С,  $[\alpha]_D^{20} + 8,3^\circ$  (с 0,725,  $\text{CHCl}_3$ ). Найдено, %: С 70,15; Н 6,55; N 2,30.  $\text{C}_{37}\text{H}_{41}\text{NO}_8$ . Вычислено, %: С 70,79; Н 6,58; N 2,23. Спектр  $^1\text{H}$ -ЯМР: 3,38 (ус, 1H, 3-ОН), 3,66 (т, 1H,  $J_{3,4} = J_{4,5} = 8,5$ , H4), 3,73 (дд, 1H,  $J_{1,2} = 1,5$ ,  $J_{2,3} = 3,5$ , H2) – перекрывается с сигналом при 3,70–3,73 (2H, H6a, H6b), 3,96 (дд, 1H,  $J_{2,3} = 3,5$ ,  $J_{3,4} = 8,5$ , H3), 4,52 и 4,85 (2д,  $2 \times 1\text{H}$ ,  $J_{\text{H, H}_{\text{геM}}}$  11,0,  $\text{OCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ), 4,53 и 4,64 (2д,  $2 \times 1\text{H}$ ,  $J_{\text{H, H}_{\text{геM}}}$  12,0,  $\text{OCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ), 4,58 и 4,76 (2д,  $2 \times 1\text{H}$ ,  $J_{\text{H, H}_{\text{геM}}}$  11,5.

$\text{OCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ), 4,93 (д, 1Н,  $J_{1,2} 1,5$ , Н1), 5,10 (с, 2Н,  $\text{COOCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ), 5,38 (ут, 1Н, NH), 7,15–7,45 (м, 20Н,  $4\text{C}_6\text{H}_5$ ).

Спектр  $^{13}\text{C}$ -ЯМР: 164,3 (C=O), 138,3; 138,1; 137,8 и 136,7 (ароматич. С), 128,6–127,6 (ароматич. СН), 97,35 (C1), 78,35 (C2), 76,6 (C4), 74,6 и 73,3 (C4- и C6- $\text{OCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ), 72,95 (C2- $\text{OCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ), 71,7 и 71,3 (C3, C5), 69,2; 67,6 и 66,7 (C6,  $\text{OCH}_2$ ,  $\text{COOCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ), 40,9 (CH<sub>2</sub>N).

(2-Бензилоксикарбониламиноэтил)-2,4,6 - три-О-бензил - 3-О-(2-О-аллил-3,4,6 - три-О-бензил- $\alpha$ -D-глюкопиранозил)- $\alpha$ -D-маннопиранозид(XXI). К раствору 784 мг (1,6 ммоль) тетраалкилглюкозы (VIII) в 25 мл абс. дихлорметана при 0° С добавляли 1 мл (11,5 ммоль) оксалилхлорида и 200 мкл (2,6 ммоль) DMF. Смесь выдерживали 1 ч при 20° С, затем упаривали. Остаток растворяли в смеси гексан – этилацетат, 1 : 1, и фильтровали через слой силикагеля. Фильтрат упаривали и сушили в вакууме. Полученный глюкзилхлорид (IX) с  $R_f$  0,75 (В) без дополнительной очистки сразу использовали для гликозилирования.

Смесь полученного глюкзилхлорида (IX), 500 мг (0,8 ммоль) маннозид (XIX), 213 мкл (1,6 ммоль) 2,4,6-коллидина и 0,5 г молекулярных сит 4 Å перемешивали 1 ч под аргоном в 20 мл абс. эфира. Затем к смеси при –20° С под аргоном добавляли по каплям раствор 415 мг (2 ммоль) перхлората серебра в 20 мл абс. эфира. Через 30 мин снимали охлаждение, реакционную смесь перемешивали 2 ч при 20° С, контролируя ход реакции ТСХ (система В). Осадок отделяли фильтрованием, фильтрат упаривали. Полученный остаток растворяли в хлороформе и промывали водным раствором тиосульфата натрия, водой. Полученный при упаривании остаток (1,49 г) хроматографировали, элюируя градиентом ацетона (0 → 8%) в бензоле. Выделили 550 мг (выход 63%) хроматографически однородного дисахарида (XXI),  $[\alpha]_D^{20} +41,1^\circ$  (с 2,36,  $\text{CHCl}_3$ ),  $R_f$  0,48 (В). Спектр  $^{13}\text{C}$ -ЯМР: 138,75–138,2 (ароматич. С), 134,8 (CH=CH<sub>2</sub>), 128,5–127,3 (ароматич. СН), 117,25 (CH=CH<sub>2</sub>), 99,4 (C1 Glc), 97,8 (C1 Man), 81,8; 79,6; 77,9; 77,6; 74,6; 74,4 (C2–C4 Glc, C2–C4 Man), 72,3 и 71,1 (C5 Glc, C5 Man), 75,5; 74,8; 73,5; 73,3; 72,5; 72,0; 69,3; 68,9; 68,1 и 66,7 (C6 Glc, C6 Man,  $\text{OCH}_2$ ,  $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ,  $6\times\text{OCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ,  $\text{COOCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ), 41,1 (CH<sub>2</sub>N).

(2-Бензилоксикарбониламиноэтил)-2,4,6 - три-О-бензил - 3-О-(3,4,6-три-О-бензил- $\alpha$ -D-глюкопиранозил)- $\alpha$ -D-маннопиранозид(XXIII). Раствор 500 мг (0,455 ммоль) полностью защищенного дисахарида (XXI) в 40 мл смеси этанол – вода, 20 : 1, кипятили 4 ч с 90 мг (0,8 ммоль) DBO и 50 мг (0,054 ммоль) хлорида трис(трифенилфосфин)родия (I), затем охлаждали и упаривали. Остаток растворяли в 20 мл смеси ацетон – вода, 3 : 1, и добавляли 150 мг (0,47 ммоль) ацетата ртути. Смесь перемешивали 1 ч, контролируя ход реакции ТСХ (система В). Полученный при упаривании смеси остаток растворяли в хлороформе, фильтровали через слой силикагеля и затем хроматографировали, элюируя смесью бензол – эфир, 17 : 3. Выделили 390 мг (выход 81%) хроматографически однородного дисахарида (XXIII),  $[\alpha]_D^{22} +44,8^\circ$  (с 1,95,  $\text{CHCl}_3$ ),  $R_f$  0,30 (В). Спектр  $^{13}\text{C}$ -ЯМР: 138,3–137,7 (ароматич. С), 128,5–127,5 (ароматич. СН), 100,1 (C1 Glc), 98,25 (C1 Man), 83,3; 77,5 (2С), 75,2; 74,6; 73,3 (C2–C4 Glc, C2–C4 Man), 72,3 и 71,4 (C5 Glc, C5 Man), 75,3; 74,8; 73,5; 72,4; 69,0; 68,7; 67,9 и 66,7 (C6 Glc, C6 Man,  $\text{OCH}_2$ ,  $6\times\text{OCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ,  $\text{COOCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ), 41,0 (CH<sub>2</sub>N).

(2-Бензилоксикарбониламиноэтил)-2,4,6 - три-О-бензил - 3-О-(2-О-ацетил - 3,4,6 - три-О-бензил -  $\alpha$ -D - глюкопиранозил)- $\alpha$  - D-маннопиранозид (XXIV). 390 мг дисахарида (XXIII) нагревали 30 мин при 100° С с 4 мл уксусного ангидрида в 6 мл абс. пиридина. После охлаждения смесь упаривали, остаток несколько раз упаривали с этанолом и толуолом, обезцвечивали впитом в ацетоне и фильтровали через слой Hyflo Supercel. При упаривании фильтрата получили 395 мг (выход 97%) хроматографически однородного ацетата (XXIV),  $[\alpha]_D^{20} +48^\circ$  (с 0,845,  $\text{CHCl}_3$ ),  $R_f$  0,60 (В). Спектр  $^{13}\text{C}$ -ЯМР: 138,8–137,7 (ароматич. С), 128,5–127,4 (ароматич. СН), 98,3; 98,1 (C1 Glc, C1 Man), 80,2; 78,1; 77,6 (2С), 73,4; 73,2 (C2–C4 Glc, C2–C4 Man), 71,9; 71,4 (C5 Glc, C5 Man), 75,4; 75,0; 74,5;

73,6 (2C), 72,1; 69,2; 68,7; 68,1 и 66,7 (C6 Glc, C6 Man, OCH<sub>2</sub>, 6×OCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>, COOCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 41,1 (CH<sub>2</sub>N), 20,6 (COCH<sub>3</sub>).

(2-Акриламидоэтил)-3-О-(α-D-глюкопиранозил)-α-D-маннопиранозид (XXVI). 317 мг частично защищенного дисахарида (XXIII) подвергли гидрогенолизу в 8 мл уксусной кислоты при 50° С в присутствии 100 мг 10% палладия на угле, контролируя ход реакции ТСХ (система И). Через 5 ч реакционная смесь содержала только одно вещество с R<sub>f</sub> 0,30 (И), дающее положительную реакцию с нингидрином. Катализатор отделяли фильтрованием, фильтрат упаривали, остаток сушили в вакууме. Получили 110 мг (выход 95%) аминоэтилгликозида (XXV).

К раствору 57 мг (0,15 ммоль) аминоэтилгликозида (XXV) в 5,5 мл смеси метанол-вода, 10:1, добавляли 0,5 мл дауэкса 1×8 (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) и 14,5 мкл (0,18 ммоль) акрилоилхлорида. Смесь перемешивали 1 ч при 20° С, контролируя ход реакции ТСХ (система И). Анионит отделяли фильтрованием, фильтрат упаривали. Получили 39 мг (выход 60%) хроматографически однородного акриламидоэтилгликозида (XXVI), [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> +99,3° (с 1,2, CH<sub>3</sub>OH), R<sub>f</sub> 0,68 (И). Спектр <sup>13</sup>C-ЯМР — см. табл. 2. Спектр <sup>1</sup>H-ЯМР (D<sub>2</sub>O) дисахарида (XXVI) содержит сигналы: 3,34 (т, 1H, J<sub>3,4</sub> = J<sub>4,5</sub> = 9,5, H4 Glc), 3,48 (дд, 1H, J<sub>1,2</sub> 4,0, J<sub>2,3</sub> 10,0, H2 Glc), 3,71 (несимм. т, 1H, J<sub>2,3</sub> ≈ J<sub>3,4</sub> ≈ 9,5, H3 Glc) — перекрывается с сигналом при 3,72 (т, 1H, J<sub>3,4</sub> ≈ J<sub>4,5</sub> ≈ 10,0, H4 Man), 3,79 (дд, 1H, J<sub>2,3</sub> 3,0, J<sub>3,4</sub> 10,0, H3 Man), 4,0 (дд, 1H, J<sub>1,2</sub> 1,7, J<sub>2,3</sub> 3,0, H2 Man), 4,78 (д, 1H, J<sub>1,2</sub> 1,7, H1 Man), 5,15 (д, 1H, J<sub>1,2</sub> 4,0, H1 Glc), 5,69 (дд, 1H, J<sub>H, H<sub>цис</sub></sub> 2,0, J<sub>H, H<sub>транс</sub></sub> 9,5, CH<sub>2</sub>=CH), 6,11 (дд, 1H, J<sub>H, H<sub>геи</sub></sub> 17,0, J<sub>H, H<sub>цис</sub></sub> 2,0, CH<sub>2</sub>=CH), 6,22 (дд, 1H, J<sub>H, H<sub>геи</sub></sub> 17,0, J<sub>H, H<sub>транс</sub></sub> 9,5, CH<sub>2</sub>=CH).

(2-Акриламидоэтил)-3-О-(2-О-ацетил-α-D-глюкопиранозил)-α-D-маннопиранозид (XXVIII). 338 мг полностью защищенного дисахарида (XXIV) подвергли гидрогенолизу в описанных выше условиях. Через 10 ч реакционная смесь содержала только одно вещество с R<sub>f</sub> 0,36 (И), дающее положительную реакцию с нингидрином. Катализатор отделяли фильтрованием, фильтрат упаривали, остаток упаривали с толуолом и сушили в вакууме. Получили 129 мг (98%) аминоэтилгликозида (XXVII).

К смеси 50 мг (0,12 ммоль) аминоэтилгликозида (XXVII) и 0,5 мл дауэкса 1×8 (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) в 5 мл метанола при перемешивании добавляли 12,05 мкл (0,15 ммоль) акрилоилхлорида. Смесь перемешивали при 20° С, контролируя ход реакции ТСХ (система И). После завершения акрилоилирования (через 15 мин) анионит отделяли фильтрованием, фильтрат упаривали, остаток сушили в вакууме. Получили 46,5 мг (выход 82,5%) хроматографически однородного вещества с R<sub>f</sub> 0,78 (И), 0,45 (Ж), содержащего наряду с акриламидоэтилгликозидом (XXVIII) примесь изомерного гликозида с О-ацетильной группой в положении 3(4) остатка глюкозы (данные спектра <sup>1</sup>H-ЯМР). При очистке этого вещества методом ВЭЖХ при элюировании смесью метанол-вода, 1:10, выделили 20 мг (выход 35,5%) акриламидоэтилгликозида (XXVIII), [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> +84,6° (с 0,7, вода), +99,1° (с 0,7, CH<sub>3</sub>OH). Спектр <sup>13</sup>C-ЯМР см. табл. 2. В спектре <sup>1</sup>H-ЯМР (D<sub>2</sub>O) дисахарида (XXVIII) имеются сигналы: 2,01 (с, 3H, COCH<sub>3</sub>), 3,85 (т, 1H, J<sub>2,3</sub> ≈ J<sub>3,4</sub> ≈ 10,0, H3 Glc), 3,93 (дд, 1H, J<sub>1,2</sub> 1,5, J<sub>2,3</sub> 3,0, H2 Man), 4,51 (дд, 1H, J<sub>1,2</sub> 4,0, J<sub>2,3</sub> 10,5, H2 Glc), 4,70 (д, 1H, J<sub>1,2</sub> 1,5, H1 Man), 5,19 (д, 1H, J<sub>1,2</sub> 4,0, H1 Glc), 5,63 (дд, 1H, J<sub>H, H<sub>цис</sub></sub> 2,0, J<sub>H, H<sub>транс</sub></sub> 9,5, CH<sub>2</sub>=CH), 6,05 (дд, 1H, J<sub>H, H<sub>геи</sub></sub> 17,0, J<sub>H, H<sub>цис</sub></sub> 2,0, CH<sub>2</sub>=CH), 6,15 (дд, 1H, J<sub>H, H<sub>геи</sub></sub> 17,0, J<sub>H, H<sub>транс</sub></sub> 9,5, CH<sub>2</sub>=CH); в серии сигналов примеси (не более 10%) имеются сигналы: 2,04 (с, COCH<sub>3</sub>), 5,09 (т, J ≈ J' ≈ 10,0, H3(4) Glc), 5,13 (д, J 4,0, H1 Glc).

Сополимеризация углеводных мономеров (XXVI) и (XXVIII) с акриламидом. Раствор 39 мг (0,09 ммоль) углеводного мономера (XXVI) и 44 мг (0,62 ммоль) акриламида («ultragrade», ЛКВ, Швеция) в 1,5 мл бидистиллированной воды деаэрировали 10 мин в вакууме водоструйного насоса. Затем под аргоном добавляли 3 мкл ТЕМЕД и 1,5 мг персульфата аммония. Смесь перемешивали 12 ч при 20° С под аргоном, загустевшую смесь разбавляли 1,5 мл воды и разделили на две порции. Каждую порцию фракционировали на колонке (2×70 см) с биогелем Р-4 (V<sub>0</sub> 60 мл) при

элюировании дистиллированной водой, собирая фракции по 5 мл. Анализ фракций осуществляли с помощью реактива фенол-серная кислота [27]. Фракции, содержащие полимер (XXIX), объединяли, концентрировали упариванием до небольшого объема и лиофилизировали, после чего сушили в вакууме над  $P_2O_5$ . Получили 70,5 мг (выход 85%) сополимера (XXIX),  $[\alpha]_D^{27} + 38,6^\circ$  (с 2,0, вода).

Аналогичным образом при сополимеризации 20 мг (0,042 ммоль) мономера (XXVIII) с 20,5 мг (0,289 ммоль) акриламида выделили 32 мг (выход 79%) сополимера (XXX),  $[\alpha]_D^{27} + 37,2^\circ$  (с 1,7, вода).

Спектры  $^{13}C$ -ЯМР сополимеров (XXIX) и (XXX) см. табл. 2.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Lindberg B., Leontein K., Lindquist U., Svenson S. B., Wrangsell G., Dell A., Rogers M. // Carbohydr. Res. 1988. V. 174. P. 313-322.
2. Di Fabio J. L., Perry M. B., Brisson J.-R. // Biochem. and Cell. Biol. 1988. V. 66. № 2, P. 107-115.
3. Lindberg A. A., Le Minor L. // Methods Microbiol. 1984. V. 15. P. 1-141.
4. Hellerqvist C. G., Hoffman J., Lindberg A. A., Lindberg B., Svensson S. // Acta chem. scand. 1972. V. 26. № 8. P. 3282-3286.
5. Di Fabio J. L., Brisson J.-R., Perry M. B. // Carbohydr. Res. 1988. V. 179. P. 233-244.
6. Кочетков Н. К., Дмитриев Б. А., Черняк А. Я., Покровский В. И., Тендегник Ю. Я., Овчарова Н. М. Соплимер 3-О-[(4-О-β-D-маннопиранозил)-α-L-рамнопиранозил]-β-аллил-В-галактопиранозид с акриламидом, обладающий серологической специфичностью О-фактора 3 бактерий рода Сальмонелла, относящихся к серологической группе Е: А. с. 879970 СССР // Б. И. 1982. № 26. С. 316.
7. Черняк А. Я., Левинский А. Б., Кочетков Н. К. // Биооргани. химия. 1988. Т. 14. № 8. С. 1047-1058.
8. Бовин Н. В., Иванова И. А., Хорлин А. Я. // Биооргани. химия. 1985. Т. 11. № 5. С. 662-670.
9. Roy R., Tropper F. // Glycoconjugate J. 1988. V. 5. № 3. P. 203-206.
10. Kosma P., Schulz G., Brade H. // Carbohydr. Res. 1988. V. 183. № 2. P. 183-199.
11. Gent P. A., Gigg R. // J. Chem. Soc. Perkin Trans. I. 1975. № 4. P. 361-363.
12. Classon B., Garegg P. J., Norberg T. // Acta chem. scand. 1984. V. B38. № 3, P. 195-201.
13. Kochetkov N. K., Khorlin A. Ya., Bochkov A. F. // Tetrahedron. 1967. V. 23. № 2, P. 639-707.
14. Eby R., Sondheimer S. J., Schuerch C. // Carbohydr. Res. 1979. V. 73. P. 273-276.
15. Takeo K., Suzuki Y. // Carbohydr. Res. 1987. V. 162. № 1. P. 95-109.
16. Черняк А. Я., Демидов И. В., Кочетков Н. К. // Биооргани. химия. 1989. Т. 15. № 12. 1673-1685.
17. Nashed M. A., Anderson L. // Tetrahedron Lett. 1976. № 39. P. 3503-3506.
18. Iversen T., Bundle D. R. // J. Chem. Soc. Chem. Commun. 1981. № 23. P. 1240.
19. Boss R., Scheffold R. // Angew. Chem. 1976. B. 88. № 17. S. 578-579.
20. Ogawa T., Matsui M. // Carbohydr. Res. 1978. V. 62. № 1. P. c1-c4.
21. Igarashi K., Irisawa J., Honma T. // Carbohydr. Res. 1975. V. 39. № 2. P. 341-343.
22. Николаев А. В., Кочетков Н. К. // Изв. АН СССР. Сер. хим. 1986. № 11. С. 2556-2565.
23. Corey E. J., Suggs J. W. // J. Org. Chem. 1973. V. 38. № 18. P. 3224.
24. Gent P. A., Gigg R. // Chem. Commun. 1974. № 7. P. 277-278.
25. Gigg R., Warren C. D. // J. Chem. Soc. (C). 1968. № 15. P. 1903-1911.
26. Кочетков Н. К., Дмитриев Б. А., Чижов О. С., Климов Е. М., Малышева Н. Н., Торгов В. И., Черняк А. Я., Байрамова Н. Э. // Изв. АН СССР. Сер. хим. 1974. № 6, С. 1387-1392.
27. Dubois M., Gilles K. A., Hamilton J. K., Rebers P. A., Smith F. // Analyt. Chem. 1956. V. 28. № 3. P. 350-356.

Поступила в редакцию 19.VI.1989

А. Я. CHERNYAK, I. V. DEMIDOV, N. K. KOCHETKOV

#### SYNTHESIS OF 2-ACRYLAMIDOETHYL 3-O-(α-D-GLUCOPYRANOSYL- AND 2-O-ACETYL-α-D-GLUCOPYRANOSYL)-α-D-MANNOPYRANOSIDE AND ITS CONVERSION INTO ARTIFICIAL ANTIGENS

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

Synthesis of 2-acrylamidoethyl α-glycosides of 3-O-(α-D-glucopyranosyl)-D-mannopyranose and 3-O-(2-O-acetyl-α-D-glucopyranosyl)-D-mannopyranose are described. The key step of the syntheses is glucosylation of 2-benzyloxycarbonylaminoethyl 2,4,6-tri-O-benzyl-α-D-mannopyranoside by 2-O-allyl-3,4,6-tri-O-benzyl-α-D-glucopyranosyl chloride according to Igarashi procedure. Use of allyl residue as the temporary blocking group allowed us to introduce 2-O-acetyl group into the glucose residue. 2-Acrylamidoethyl glucosides prepared were converted into copolymer artificial antigens, which are of interest for studies on immunochemistry of the factor 0:6 of Salmonella O-antigens (serological groups C and H).