



УДК 547.455.6'118.057

© 1991 г.

*А. В. Николаев, И. А. Иванова, В. Н. Шубаев,  
А. В. Игнатенко*

**ФРАГМЕНТЫ БИОПОЛИМЕРОВ, СОДЕРЖАЩИХ ОСТАТКИ  
ГЛИКОЗИЛФОСФАТОВ.**

**7\*. ИССЛЕДОВАНИЕ РЕАКЦИИ ГЛИКОЗИЛВОДОРОДФОСФОНАТОВ  
С ТРИМЕТИЛАЦЕТИЛХЛОРИДОМ И СПИРТАМИ МЕТОДОМ  
СПЕКТРОСКОПИИ <sup>31</sup>P-ЯМР**

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

Методом спектроскопии <sup>31</sup>P-ЯМР изучена реакция гликозилводородфосфонатов с триметилацетилхлоридом в пиридине и хинолине, приводящая к моноацил- и диацилгликозилфосфитам. Последующее взаимодействие со спиртом давало ди- и триэфиры фосфористой кислоты. Показано, что диэфиры медленно реагируют с триметилацетилхлоридом и спиртом с образованием триэфиров и продуктов С-фосфонатной природы. Триэфиры при продолжительном выдерживании в пиридине расщепляются по гликозилфосфитной связи с образованием диалкилводородфосфонатов.

В последнее время широкое распространение в синтезе различных фосфодиэфиров получил водородфосфонатный метод, первоначально предложенный для получения олиго- и полинуклеотидов [2, 3]. Использование этого подхода позволило разработать высокоэффективный способ синтеза гликозилфосфосахаров — природных фосфодиэфиров, в которых фосфатная группа связана как с гликозидным, так и со спиртовым гидроксилами разных углеводных звеньев. Данный способ основан на конденсации производного гликозилводородфосфоната со спиртовым акцептором в присутствии конденсирующего реагента и последующем окислении образующегося диэфира водородфосфоновой кислоты до фосфата [1, 4—7]. Настоящая публикация посвящена изучению основных путей реакции гликозилводородфосфонатной конденсации методом спектроскопии <sup>31</sup>P-ЯМР. При аналогичном исследовании взаимодействия производного нуклеозид-3'-или этилводородфосфоната со спиртами в присутствии триметилацетилхлорида было показано [8, 9], что основными интермедиатами реакций,

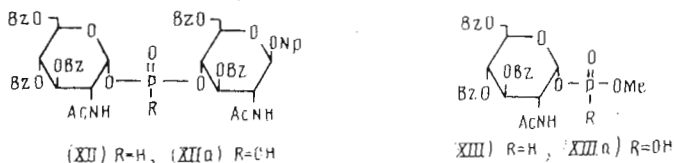
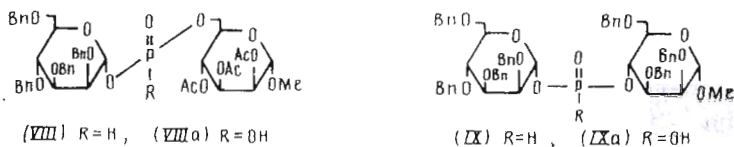
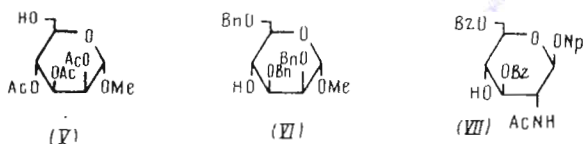
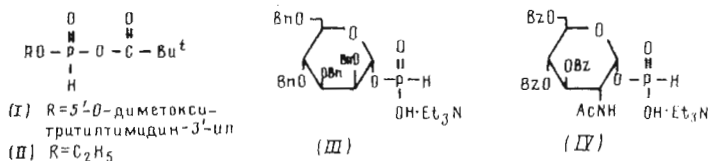
**Химические сдвиги <sup>31</sup>P-ЯМР и КССВ <sup>1</sup>J<sub>P,H</sub> соединений (I)—(IV), (VIII)—(XIV), (XVI)—(XVIII), (XXI)—(XXIV) и (XXVI) в пиридине (А) и хинолине с ацетонитрилом (2 : 1) (Б)**

Соединение	А		Б		Соединение	А		Б	
	δ <sub>P</sub> , м.д.	<sup>1</sup> J <sub>P,H</sub> , Гц	δ <sub>P</sub> , м.д.	<sup>1</sup> J <sub>P,H</sub> , Гц		δ <sub>P</sub> , м.д.	<sup>1</sup> J <sub>P,H</sub> , Гц	δ <sub>P</sub> , м.д.	<sup>1</sup> J <sub>P,H</sub> , Гц
(I)	1,10 [8]	740 [9]			(XIII)	10,72	741		
(II)	2,62; 2,72 [9]	732 [8]			(XIV)			1,04	750
(III)	1,20 [8]				(XVI)	125,79	0	125,21	0
(IV)	0,06	618	-0,76	619	(XVII)	123,02	0		
(VIII)	1,45	625			(XVIII)	-8,37	0		
(IX)	7,58; 8,53 [4]	716 [4]			(XXI)	-3,16	0	-4,20	0
(X)	8,21	739			(XXII)	139,35	0	138,99	0
(XI)	6,64	712	6,34	712	(XXIII)	141,95	0		
(XII)	8,40	713			(XXIV)	8,19	691	8,07	690
	8,95	737			(XXVI)	-1,87	0	-2,20	0

\* Сообщение 6 см. [1].

зафиксированными на спектрах, являются смешанные ангидриды алкил-водородфосфоновой и карбоновой кислот (I) и (II).

В данной работе в качестве гликозилводородфосфонатов были использованы производные (III) и (IV). Спиртовыми компонентами являлись соединения (V)—(VII), а также этанол и метанол. Реакции конденсации проводили в присутствии триметилацетилхлорида.

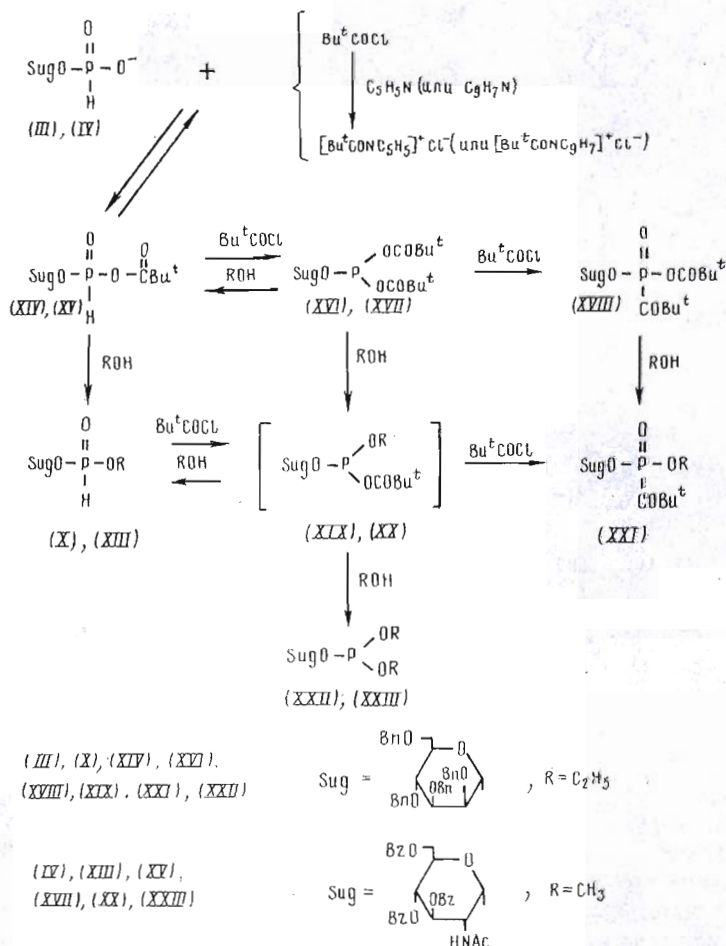


При взаимодействии в пиридине эквимольных количеств соединений (III) + (V), (III) + (VI), (III) + EtOH, (III) + MeOH и (IV) + (VII) в стандартных условиях препаративного синтеза (2,5 экв. Me<sub>3</sub>CCOCl, 20° С) никакие интермедиаты зафиксировать не удалось. Первые спектры, записанные через 2—3 мин после начала реакции, показали полное превращение исходных гликозил-Н-фосфонатов в диэфиры водородфосфоновой кислоты (VIII)—(XII) (см. таблицу). Этот результат позволяет предположить, что образующееся активированное производное водородфосфоната в указанных условиях быстро реагирует со спиртом и поэтому не может быть обнаружено методом ЯМР. Строение диэфиров (VIII)—(XII) подтверждали данными спектров ЯМР этих соединений (для (VIII)), а также продуктов их окисления — фосфодиэфиров (VIIIa)—(XIIa) (см. работы [4, 5, 7] и «Экспериментальную часть»).

Далее мы исследовали реакцию О-бензилированного маннозил-Н-фосфоната (III) с конденсирующим реагентом в пиридине в отсутствие спиртового компонента. Как уже отмечалось выше, при проведении аналогичной реакции с производными нуклеозидов или этанола [8, 9] происходило частичное или полное превращение исходных Н-фосфонатов в смешанные ангидриды (I) или (II). Последние мало отличались от исходных по химическому сдвигу <sup>31</sup>P-ЯМР, но имели существенно большую (на >100 Гц)

величину КССВ  $^1J_{P,H}$ . В нашем случае после добавления к раствору соединения (III) 0,5 экв.  $Me_3COCl$  в спектре наблюдали единственный сигнал  $\delta_P$  1,21,  $^1J_{P,H}$  633 Гц (рис. 1, 2). Наличие такого сигнала можно объяснить быстро устанавливающимся равновесием между соединением (III) и активированным интермедиатом — смешанным ангидридом (XIV) (см. схему 1). При этом химический сдвиг зависит от положения равновесия и является промежуточным между сдвигами соединений (III) и (XIV). Присутствие активированного интермедиата было подтверждено экспериментально: после прибавления 3 экв. этанола смесь содержала диэфир (X) ( $\delta_P$  6,64,  $^1J_{P,H}$  712 Гц) и исходный Н-фосфонат (III) в соотношении 9 : 91 (рис. 1, 3).

Схема 1



После взаимодействия гликозилводородфосфоната (III) с 1,5 экв. пивалоилхлорида в спектре также присутствовал сигнал, отвечающий равновесной смеси соединений (III) и (XIV) ( $\delta_P$  1,44,  $^1J_{P,H}$  637 Гц), основным же компонентом реакции (53%) был продукт повторного ацилирования фосфоната — диацетилгликозилфосфит (XVI) ( $\delta_P$  125,8\*, рис. 1, 4). Последующее прибавление EtOH приводило к образованию гликозилэтилового диэфира (X) и гликозилдиэтилфосфита (XXII) ( $\delta_P$  139,35\*\*), причем диацетильное производное (XVI) лишь частично превращалось в триэфир (XXII) (рис. 1, 5, 6). Через 3 мин смесь содержала 8% триэфира (XXII) и 29% диэфира (X), а также диацетилфосфит (XVI) и фосфонат (III). Через

\* Ср. хим. сдвиги  $^{31}\text{P}$ -ЯМР производных дипивалоилнуклеозидфосфитов — 122,3 [8] 122,7 [9] и дипивалоилэтилфосфита — 122,6 [8].

\*\* Ср. хим. сдвиги  $^{31}\text{P}$ -ЯМР производных нуклеозиддиэтилфосфитов — 138,0 [8], 139,9 [9] и триэтилфосфита — 138,8 [8].

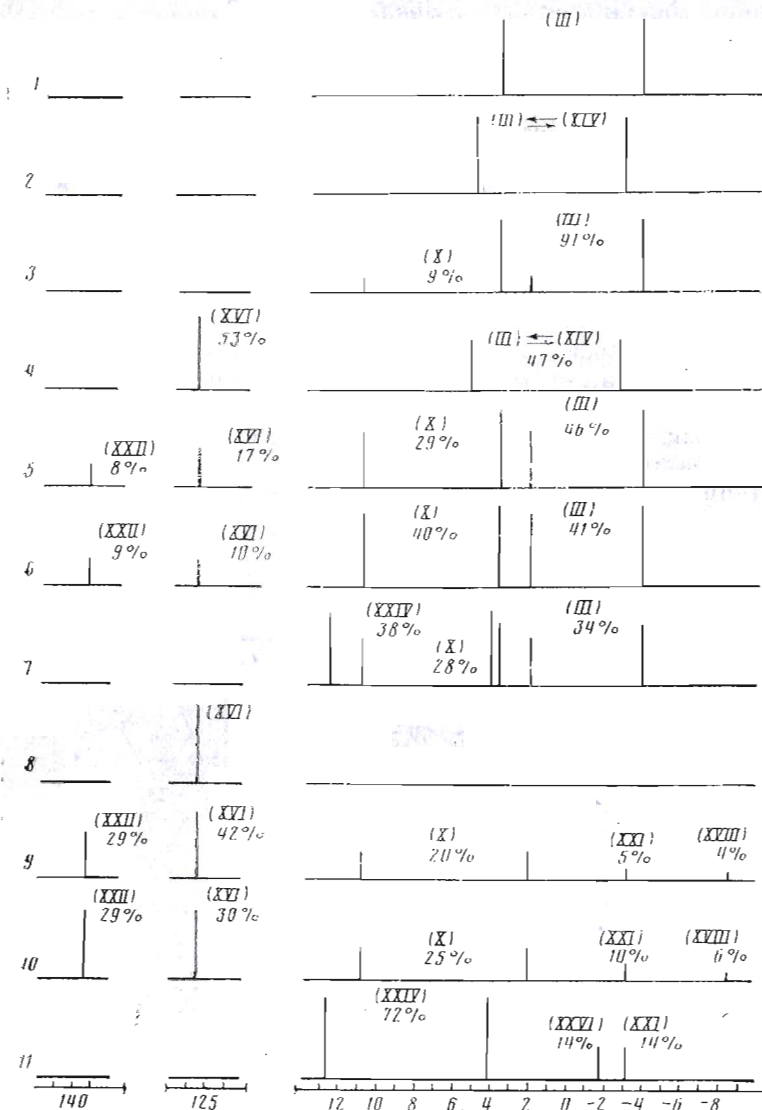


Рис. 1. Спектры  $^{31}\text{P}$ -ЯМР-реакционных смесей гликозил-Н-фосфоната (III) в пиридине: 1 — исходный Н-фосфонат (III); 2 — (III) +  $\text{Me}_3\text{CCOCl}$  (0,5 экв.) через 3 мин; 3 — та же смесь +  $\text{EtOH}$  (3 экв.) через 3 мин; 4 — (III) +  $\text{Me}_3\text{CCOCl}$  (1,5 экв.) через 3 мин; 5 — та же смесь +  $\text{EtOH}$  (3 экв.) через 3 мин; 6 — та же смесь через 1 ч; 7 — та же смесь через 120 ч; 8 — (III) +  $\text{Me}_3\text{CCOCl}$  (3 экв.) через 3 мин; 9 — та же смесь +  $\text{EtOH}$  (3 экв.) через 3 мин; 10 — та же смесь через 1 ч; 11 — та же смесь через 120 ч

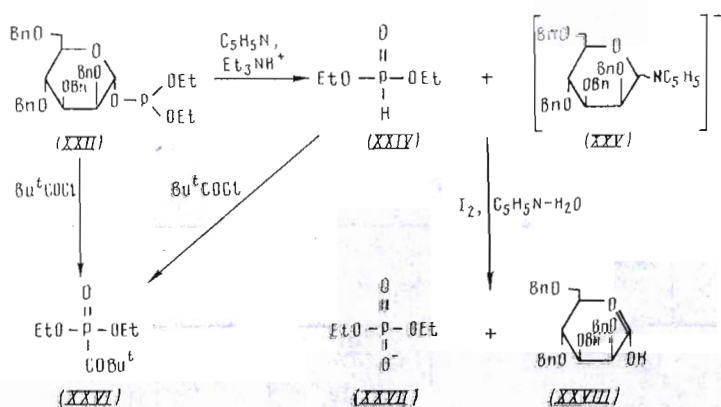
1 ч содержание диэфира возросло до 40%, тогда как количество триэфира практически не изменилось.

Полное превращение Н-фосфоната (III) в диацилфосфит (XVI) было достигнуто при использовании 3-кратного избытка  $\text{Me}_3\text{CCOCl}$  (рис. 1, 8). Последующая обработка этанолом (рис. 1, 9, 10) вновь, как и в предыдущем опыте, приводила к его частичному превращению в триэфир (XXII) (29%). Одновременно в смеси в сравнимых количествах был обнаружен диэфир (X). Последний, по-видимому, получался из соединения (XVI) и спирта путем двух последовательных реакций нуклеофильного замещения: по атому фосфора (с образованием интермедиата (XIX)) и по карбонильной группе ацильного фрагмента. Другой путь образования диэфира (X), через смешанный ангидрид (XIV), в данном случае представляется менее вероятным, так как должен был бы сопровождаться появлением смеси Н-фосфоната (III), находящегося в равновесии с соединением (XIV). Однако его сигналы в спектрах отсутствовали. В спектрах наблюдали

также минорные синглетные сигналы  $\delta_P - 8,37$  и  $\delta_P - 3,16$ , которые могли принадлежать С-фосфонатам (XVIII) и (XXI), продуктам взаимодействия соединений (XVI) и (XIX) с избытком пивалоилхлорида по реакции типа реакции Арбузова [10]. Образование аналогичных нуклеозидных производных в сходных условиях описано в работах [11, 12].

Логично было ожидать, что со временем весь диацилфосфит (XVI) прореагирует со спиртом с образованием диэфира (X) и триэфира (XXII) в качестве основных продуктов. Однако в реакционной смеси через 120 ч (рис. 1, 11) основным фосфорсодержащим компонентом (72%) являлся диэтилводородфосфонат (XXIV) —  $\delta_P 8,19$ ,  $^1J_{P,H} 691$  Гц\*. Присутствовали также минорные продукты с предполагаемой С-фосфонатной структурой (XXI) и (XXVI) (см. таблицу, ср. [12]). Образование диэфира (XXIV) протекало, очевидно, в результате превращения соединений (X) и (XVI) в присутствии избытка пивалоилхлорида и спирта в гликозиддиэтилфосфит (XXII) (по схеме 1) с последующим нуклеофильным расщеплением гликозилфосфитной связи под действием пиридина (схема 2). Последняя реакция, по-видимому, существенно облегчалась благодаря стабилизации отщепляющегося диэтилфосфит-аниона путем протонирования.

Схема 2



Образование диэтил-Н-фосфоната (XXIV), сопровождавшееся исчезновением сигналов диацил- и диэтилгликозилфосфитов, наблюдалось также при длительном (120 ч) выдерживании реакционной смеси (III) +  $Me_3CCOCl$  (1,5 экв.) +  $EtOH$  (3 экв.) (см. рис. 1, 5–7). Наличие в спектре (рис. 1, 7) сравнимых сигналов Н-фосфонатных производных (III) и (X) в данном случае объясняется невозможностью их полного превращения в триэфир (XXII) и С-фосфонаты (XVIII) и (XXI) из-за недостатка пивалоилхлорида в смеси. Строение основных продуктов нуклеофильного расщепления гликозиддиэтилфосфита (XXII) было подтверждено после окисления соответствующей реакционной смеси (см. рис. 1, 11 и схему 2) иодом в водном пиридине. В результате были получены диэтилфосфат (XXVII) и тетра-О-бензил-D-манноза (XXVIII), которые были идентичны с заведомыми образцами по данным ТСХ и ЯМР (см. «Экспериментальную часть»).

Выполненные эксперименты показали, что взаимодействие гликозидводородфосфоната (III) с триметилацетилхлоридом и спиртом протекает достаточно сложно и не ограничивается образованием диэфирного и триэфирного производных (X) и (XXII), как это имеет место в случае нуклеозид-Н-фосфонатов [8, 9]. Этот вывод подтверждался при изучении реакции другого гликозил-Н-фосфоната — О-бензоилированного производного N-ацетилгликозамина (IV) (рис. 2). Обработка последнего пивалоил-

\* Ср. лит. данные —  $\delta_P 8,0$ ,  $^1J_{P,H} 686$  Гц [13].

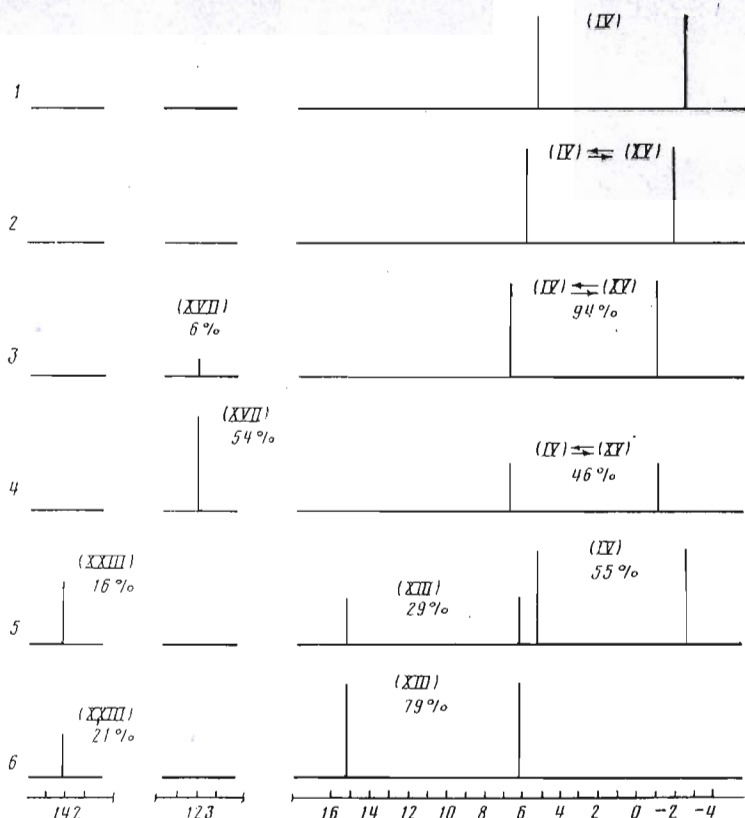


Рис. 2. Спектры  $^{31}\text{P}$ -ЯМР реакционных смесей гликозил-Н-фосфоната (IV) в пиридине (записаны через 3—4 мин после добавления реагентов): 1 — исходный Н-фосфонат (IV); 2 — (IV) +  $\text{Me}_3\text{CCOCl}$  (0,5 экв.); 3 — (IV) +  $\text{Me}_3\text{CCOCl}$  (1,5 экв.); 4 — (IV) +  $\text{Me}_3\text{CCOCl}$  (3 экв.); 5 — та же смесь +  $\text{MeOH}$  (37 экв.); 6 — та же смесь +  $\text{Me}_3\text{CCOCl}$  (3 экв.)

хлоридом в пиридине также приводила к равновесной смеси исходного Н-фосфоната и смешанного ангидрида  $(\text{IV}) \rightleftharpoons (\text{XV})$  (рис. 2, 2:  $\delta_{\text{P}}$  2,11,  $^1J_{\text{P,H}}$  632 Гц; рис. 2, 3, 4:  $\delta_{\text{P}}$  2,74,  $^1J_{\text{P,H}}$  640 Гц), доля которой уменьшалась со 100 до 46% при повышении содержания  $\text{Me}_3\text{CCOCl}$  с 0,5 до 3 экв. Одновременно в реакционной смеси накапливался диацилфосфит (XVII) (до 54%). После добавления большого избытка  $\text{MeOH}$  (37 экв.) спектр ЯМР зафиксировал образование диметилового триэфира (XXIII) (16%) и метилового диэфира (XIII) (29%). Однако основным компонентом неожиданно оказался исходный водородфосфонат (IV) (рис. 2, 5). Его образование может быть объяснено как результат действия двух факторов: реакции  $(\text{XVII}) + \text{MeOH} \rightarrow (\text{XV})$  и смещения равновесия  $(\text{IV}) \rightleftharpoons (\text{XV})$  влево из-за связывания пивалоилхлорида (по-видимому, в виде соли пивалоилпиридиния) избытком метанола (см. схему 1). Повторное прибавление  $\text{Me}_3\text{CCOCl}$  привело только к продуктам конденсации фосфоната (IV) и  $\text{MeOH}$  — диэфиру (XIII) и триэфиру (XXIII) (см. рис. 2, 6). После обработки реакционной смеси иодом продукт окисления соединения (XIII), фосфодиэфир (XIIIa), был выделен и охарактеризован данными спектроскопии  $^1\text{H}$ - и  $^{31}\text{P}$ -ЯМР (см. «Экспериментальную часть»).

Заключительная серия экспериментов была посвящена исследованию реакции гликозил-Н-фосфоната (III) с  $\text{Me}_3\text{CCOCl}$  и спиртом в хинолине с ацетонитрилом (2 : 1, добавление  $\text{CH}_3\text{CN}$  необходимо для полного растворения исходного (III)). Выбор хинолина в качестве растворителя был продиктован тем, что в пиридине не были получены индивидуальные сигналы  $^{31}\text{P}$ -ЯМР смешанных ангидридов (XIV) и (XV). Последние либо находились в равновесии с исходным Н-фосфонатом и давали усредненный сигнал (см. выше), либо, при избытке пивалоилхлорида, легко переходили в диацилфосфиты (XVI) и (XVII). По данным [9], в менее основ-

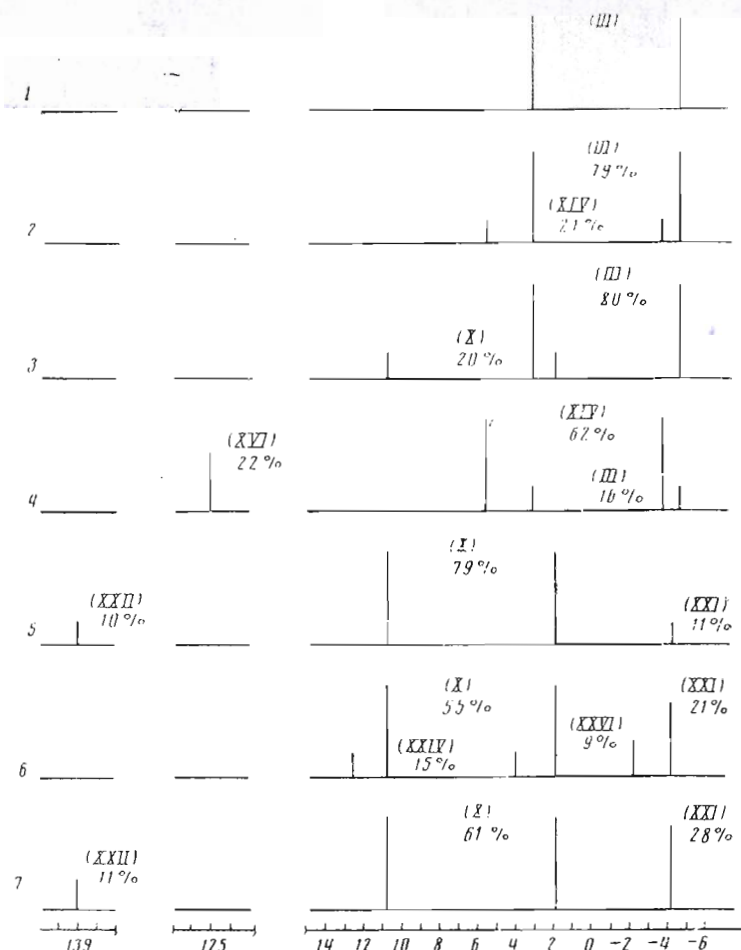


Рис. 3. Спектры  $^{31}\text{P}$ -ЯМР реакционных смесей гликозил-Н-фосфоната (III) в смеси хинолин — ацетонитрил (2 : 1): 1 — исходный Н-фосфонат (III); 2 — (III) +  $\text{Me}_3\text{CCOCl}$  (1,5 экв.) через 3 мин; 3 — та же смесь +  $\text{EtOH}$  (3 экв.) через 3 мин; 4 — (III) +  $\text{Me}_3\text{CCOCl}$  (2,5 экв.) через 3 мин; 5 — та же смесь +  $\text{EtOH}$  (3 экв.) через 3 мин; 6 — та же смесь +  $\text{Me}_3\text{CCOCl}$  (5 экв.) через 170 ч; 7 — диэфир (X) +  $\text{EtOH}$  (2 экв.) +  $\text{Me}_3\text{CCOCl}$  (7 экв.) через 120 ч

ном хинолине ( $\text{pK}_a^{\text{H}}$  4,8, для пиридина  $\text{pK}_a^{\text{H}}$  5,2) превращение нуклеозид-ацил-Н-фосфоната (I) в соответствующее диацильное производное было подавлено. Мы предположили, что скорость образования диацилгликозилфосфитов в хинолине также будет относительно низка и смешанные ангидриды при определенном соотношении реагентов могут быть основными компонентами реакционной смеси [9].

Первоначально было показано, что конденсация фосфоната (III) с этанолом в присутствии 2,5 экв. пивалоилхлорида ( $20^\circ\text{C}$ ) в хинолине с  $\text{CH}_3\text{CN}$  протекает так же быстро, как и в пиридине. Через 2—3 мин спектр фиксировал наличие единственного фосфорсодержащего соединения — диэфира (X). Выполнение той же реакции в отсутствие  $\text{EtOH}$  действительно приводило к смешанному ангидриду (XIV) ( $\delta_{\text{P}}$  1,04,  $^1J_{\text{P,H}}$  750 Гц)\*, являвшемуся основным компонентом смеси (62%). Кроме него присутствовали сигналы соединения (III) и диацилфосфита (XVI) (см. рис. 3, 4). Наличие в спектре индивидуальных сигналов исходного Н-фосфоната (III) и ангидрида (XIV) (в отличие от реакции в пиридине) объясняется, по-видимому, относительно невысокой скоростью переходов (III)  $\rightleftharpoons$  (XIV) при реакции в хинолине.

\* Ср. с данными для соединений (I) и (II) в таблице.

При обработке фосфоната (III) 1,5 экв. триметилацетилхлорида (рис. 3, 2) также наблюдали частичное образование ангидрида (XIV) (21%). Последующее добавление спирта (3 экв.) привело к полному превращению последнего в диэфир (X) (рис. 3, 3). Аналогичный результат был получен после прибавления спирта к смеси, содержащей 62% ангидрида (XIV) и 22% диацилфосфита (XVI) (рис. 3, 4). При этом помимо диэфира (X) (79%) в спектре появлялись минорные сигналы триэфира (XXII) и С-фосфоната (XXI) (см. рис. 3, 5 и схему 1).

Последующая длительная обработка полученной смеси избытком  $\text{Me}_3\text{CCOCl}$  (5 экв., 170 ч) приводила к исчезновению триэфира (XXII) и появлению продукта его нуклеофильного расщепления по С1, диэтилводородфосфоната (XXIV) — 15%, а также С-фосфоната (XXVI) — 9% (см. рис. 3, 6 и схему 2). Содержание диэфира (X) снижалось до 55%, однако он оставался основным компонентом. Сравнение этого результата с картиной аналогичных превращений в пиридине (см. рис. 1, 7, 11) показывает, что в данном случае основность растворителя оказывает решающее влияние на направление протекания последовательности реакций  $(X) \rightleftharpoons (XIX) \rightarrow (XXII) \rightarrow (XXIV)$  и, как следствие, на состав конечных продуктов.

В то же время в отдельном эксперименте было установлено, что диэфир (X) в хинолине медленно реагирует с  $\text{Me}_3\text{CCOCl}$  (7 экв.) и спиртом (2 экв.), частично превращаясь в С-фосфонат (XXI) и триэфир (XXII). Если через 1 ч спектр фиксировал наличие единственного фосфорсодержащего компонента (X), то через 120 ч содержание соединений (XXI) и (XXII) составило 28 и 11% соответственно (см. рис. 3, 7).

Детальный анализ результатов проведенного исследования позволил обобщить совокупность реакций гликозилводородфосфонатов с триметилацетилхлоридом и спиртом, протекающих в пиридине и хинолине, в виде единой схемы (схема 1). Каждое превращение, приведенное на схеме, было подтверждено конкретными спектроскопическими экспериментами, представленными на рис. 1—3. При обсуждении результатов мы сознательно не рассматривали влияние растворителей как нуклеофильных катализаторов, которое, по-видимому, имеет место в ходе реакций ацилирования и фосфитилирования. Выяснение роли нуклеофильного катализа в данной системе не входило в задачу настоящей работы и должно стать предметом самостоятельного исследования.

Было показано, что смешанные ангидриды (XIV) и (XV) являются первыми продуктами взаимодействия Н-фосфонатов с  $\text{Me}_3\text{CCOCl}$  и непосредственными предшественниками диэфиров водородфосфоновой кислоты. Смешанные ангидриды в пиридине легко переходят в диацилгликозилфосфиты (XVI) и (XVII), которые реагируют со спиртом с образованием не только триэфиров (XXII) и (XXIII) (как в случае нуклеозидов [8, 9, 14]), но и диэфирных производных (X) и (XII). Увеличение избытка спирта при этом может привести к расщеплению диацилфосфита до исходного гликозил-Н-фосфоната.

Следует отметить несколько различающийся состав продуктов реакции фосфоната (III) с пивалоилхлоридом и спиртом в пиридине и хинолине. Если в пиридине при достаточном количестве реагентов реакция легко доходила до тризамещенных производных фосфористой кислоты (XVI) и (XXII), то в менее основном хинолине главными продуктами были дизамещенные производные — соединения водородфосфонатной природы (XIV) и (X).

Важным результатом явилось наблюдавшееся в обоих растворителях превращение диэфира Н-фосфоновой кислоты (X) в диалкилгликозилфосфит (XXII), протекающее при длительной обработке спиртом и избытком конденсирующего реагента. Отмечалось образование небольших количеств С-фосфонатных производных (XVIII) и (XXI), получаемых также в присутствии избытка  $\text{Me}_3\text{CCOCl}$  (по-видимому, по реакции типа Арбузова из соединений (XVI) и (XIX)).

Наконец, было обнаружено, что гликозилный триэфир (XXII) при длительном выдерживании в пиридине или хинолине полностью расщеп-



ляется — вероятно, вследствие нуклеофильной атаки по гликозидному атому углерода — с образованием диэтилводородфосфоната (XXIV) (схема 2).

Сравнение продуктов реакций, протекающих при взаимодействии гликозилводородфосфонатов с  $\text{Me}_3\text{CCOCl}$  и спиртом, с продуктами аналогичных превращений нуклеозидводородфосфонатов показывает, что ряд процессов наблюдается только для гликозильных производных: частичное превращение диацилфосфитов (XVI) и (XVII) в диэферы (X) и (XIII) при обработке спиртом; образование триэфира (XXII) из диэфира (X), пивалоилхлорида и спирта; нуклеофильное расщепление триэфира (XXII), протекающее с освобождением гликозильного фрагмента. По данным [8, 9, 14], смешанный ангидрид (I) и соответствующий диацилнуклеозидфосфит реагирует со спиртом с образованием только диэфирного и триэфирного производных соответственно.

В заключение необходимо напомнить, что большинство превращений, изображенных на схеме 1, наблюдалось в результате реакций гликозилводородфосфонатов с триметилацетилхлоридом с последующим прибавлением спиртового компонента. В препаративном синтезе гликозилфосфосахаров используется обратный порядок введения реагентов: к раствору *N*-фосфоната и спирта прибавляют  $\text{Me}_3\text{CCOCl}$ . В этих условиях целевые диэферы типа (X) и (XIII) образуются с высоким выходом, очевидно, через смешанные ангидриды типа (XIV) и (XV). Полученные нами результаты показывают, однако, что продолжительное выдерживание реакционной смеси без окисления может приводить к дальнейшим превращениям диэфиров водородфосфоновой кислоты и снижению их выхода.

### Экспериментальная часть

Спектры  $^{31}\text{P}$ -ЯМР записывали на приборе Bruker AC-200 с рабочей частотой 81,015 МГц без подавления взаимодействия P-{H}. Спектры  $^1\text{H}$ -ЯМР сняты на приборе Bruker WM-250 (250 МГц по  $^1\text{H}$ ). Химические сдвиги выражены в шкале  $\delta$  относительно 85%  $\text{H}_3\text{PO}_4$  (внешний стандарт) для  $^{31}\text{P}$  и относительно тетраметилсилана для  $^1\text{H}$ ; КССВ даны в герцах. Оптическое вращение измеряли на поляриметре Jasco DIP-360. Растворы упаривали в вакууме при температуре не выше 40° С. Аналитическую ТСХ выполняли на пластинках с закрепленным слоем  $\text{SiO}_2$ . Kieselgel 60  $\text{F}_{254}$  (Merck), обнаруживая вещества по УФ-поглощению или 10%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  в  $\text{MeOH}$  при нагревании. Системы для ТСХ: хлороформ — метанол, 8 : 2 (А); бензол — ацетон, 85 : 15 (Б). Колоночную хроматографию (КХ) проводили на  $\text{SiO}_2$  TLC Kieselgel 60Н (Merck). Синтез моногидроксильных соединений (V)–(VII) описан в работах [15], [5] и [7]. Приготовление пиридина — см. [4].

*2,3,4,6-Тетра-О-бензил- $\alpha$ -D-маннопиранозилводородфосфонат, триэтиламмониевая соль (III)*. Получали из 270 мг (0,5 ммоль) тетра-О-бензил-D-маннозы (XXVIII) [16] по методике [4]. Полученный продукт хроматографировали на  $\text{SiO}_2$  в дихлорметане (содержащем 1%  $\text{Et}_3\text{N}$ ) с метанолом (0 → 9%  $\text{MeOH}$ ). Выделили 320 мг соединения (III) (91%, сироп),  $R_f$  0,35 (А). Данные ЯМР — см. [4].

*2-Ацетамидо-2-дезоксиглюкопиранозилводородфосфонат, триэтиламмониевая соль (IV)*. Получали из 106 мг (0,2 ммоль) 2-ацетамидо-2-дезоксиглюкопиранозила по методике [4]. Полученный продукт хроматографировали на  $\text{SiO}_2$  в дихлорметане с метанолом (4 → 20%  $\text{MeOH}$ ). Выделили 140 мг соединения (IV) (98%, аморфный),  $[\alpha]_D^{29} +42^\circ$  (с 1, хлороформ),  $R_f$  0,27 (А). Спектр  $^1\text{H}$ -ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ ): 1,30 (т, 9H,  $\text{CH}_3\text{CH}_2$ ,  $J$  7,0), 1,87 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 3,05 (к, 6H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 4,36 (дд, 1H, H6a,  $J_{5,6a}$  4,0,  $J_{6a,6b}$  12,7), 4,60 (дд, 1H, H6b,  $J_{5,6b}$  2,6), 4,61 (м, 1H, H2), 4,65 (м, 1H, H5), 5,71 (дд, 1H, H1,  $J_{1,2}$  3,4,  $J_{1,P}$  8,3), 5,73 (т, 1H, H4,  $J_{3,4} = J_{4,5} = 9,5$ ), 5,82 (т, 1H, H3,  $J_{2,3}$  9,5), 6,70 (д, 1H, NH,  $J_{2,NH}$  9,3), 7,06 (д, 1H, PH,  $^1J_{H,P}$  635), 7,28 — 7,59 и 7,85 — 8,08 (м, 15H,  $\text{C}_6\text{H}_5$ ). Спектр  $^{31}\text{P}$ -ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ ): 1.60.

*Взаимодействие гликозилводородфосфонатов (III) и (IV) со спиртами (V)–(VII) в присутствии триметилацетилхлорида.* От смеси 0,05 ммоль производного гликозил-Н-фосфоната и 0,05 ммоль спиртового соединения отгоняли пиридин (3 × 2 мл). После растворения остатка в 0,5 мл пиридина записывали спектр <sup>31</sup>P-ЯМР. К раствору при перемешивании прибавляли 0,125 ммоль Me<sub>3</sub>CCOCl и вновь записывали спектр.

*Взаимодействие гликозилводородфосфоната (III) с этанолом в присутствии Me<sub>3</sub>CCOCl.* (2,3,4,6-Тетра-О-бензил-α-D-маннопиранозил)этилфосфат, триэтиламмониевая соль (Ха). Высушивали 35 мг (0,05 ммоль) Н-фосфоната (III) отгонкой с пиридином (3 × 2 мл) и растворяли в 0,5 мл пиридина. После прибавления 0,006 мл (0,1 ммоль) EtOH записывали спектр <sup>31</sup>P-ЯМР. Прибавляли 0,016 мл (0,125 ммоль) Me<sub>3</sub>CCOCl (записывали спектр) и обрабатывали смесь раствором 25 мг (0,1 ммоль) иода в 0,5 мл 95% водного пиридина (δ<sub>р</sub> —1,24). Раствор выливали на лед, разбавляли хлороформом (50 мл), промывали 0,5 М Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (2 × 25 мл), 0,5 М TEAB (2 × 25 мл), высушивали и упаривали. Из остатка методом КХ в дихлорметане (содержащем 1% Et<sub>3</sub>N) с метанолом (2 → 6% MeOH) выделили 36 мг фосфоциэфира (Ха) (96%, сироп), [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> +23,4° (с 1, хлороформ), R<sub>f</sub> 0,45 (А). Спектр <sup>1</sup>H-ЯМР (CDCl<sub>3</sub>): 1,17 (т, 3H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O), 1,22 (т, 9H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>N, J 7,0), 2,94 (к, 6H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>N), 3,69 (дд, 1H, H6a, J<sub>5,6a</sub> 3,5, J<sub>6a,6b</sub> 11,0), 3,78 (дд, 1H, H6b, J<sub>5,6b</sub> 4,0), 3,87 (квинтет, 2H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O, J<sub>H,P</sub> = J<sub>H,H</sub> = 7,0), 3,93 (дд, 1H, H2, J<sub>2,3</sub> 2,0), 4,04 (м, 3H, H3, H4, H5), 4,47 и 4,62 (2д, 2H, CH<sub>2</sub>Ph, J 11,6), 4,55 и 4,93 (2д, 2H, CH<sub>2</sub>Ph, J 11,0), 4,58 (с, 2H, CH<sub>2</sub>Ph), 4,74 и 4,80 (2д, 2H, CH<sub>2</sub>Ph, J 12,1), 5,73 (дд, 1H, H1, J<sub>1,2</sub> 1,6, J<sub>1,P</sub> 7,9), 7,12–7,50 (м, 20 H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>). Спектр <sup>31</sup>P-ЯМР (CDCl<sub>3</sub>): —1,93.

*Взаимодействие гликозилводородфосфоната (III) с метанолом в присутствии Me<sub>3</sub>CCOCl.* (2,3,4,6-Тетра-О-бензил-α-D-маннопиранозил)метилфосфат, триэтиламмониевая соль (XIa). Реакцию выполняли по методике, описанной в предыдущем эксперименте, с использованием 0,004 мл (0,1 ммоль) MeOH вместо EtOH. После окисления (δ<sub>р</sub> —0,06) выделили 35 мг фосфоциэфира (XIa) (95%, сироп), [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> +14,3° (с 1, хлороформ), R<sub>f</sub> 0,36 (А). Спектр <sup>1</sup>H-ЯМР (CDCl<sub>3</sub>): 1,24 (т, 9H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>, J 7,5), 2,97 (к, 6H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>), 3,54 (д, 3H, CH<sub>3</sub>O, J<sub>H,P</sub> 11,3), 3,72 (дд, 1H, H6a, J<sub>5,6a</sub> 0,8, J<sub>6a,6b</sub> 11,0), 3,80 (дд, 1H, H6b, J<sub>5,6b</sub> 3,2), 3,94 (дд, 1H, H2, J<sub>2,3</sub> 2,3), 4,05 (м, 3H, H3, H4, H5), 4,49 и 4,64 (2д, 2H, CH<sub>2</sub>Ph, J 12,0), 4,57 и 4,94 (2д, 2H, CH<sub>2</sub>Ph, J 11,0), 4,59 (с, 2H, CH<sub>2</sub>Ph), 4,75 и 4,81 (2д, 2H, CH<sub>2</sub>Ph, J 12,5), 5,74 (дд, 1H, H1, J<sub>1,2</sub> 1,9, J<sub>1,P</sub> 7,5), 7,17–7,47 (м, 20H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>). Спектр <sup>31</sup>P-ЯМР (CDCl<sub>3</sub>): —1,13.

*Последовательное взаимодействие гликозилводородфосфонатов (III) и (IV) с триметилацетилхлоридом и спиртами в пиридине или хинолине с ацетонитрилом (2 : 1).* Соединение (III) или (IV) (35 мг, 0,05 ммоль) высущивали отгонкой с пиридином (3 × 2 мл), растворяли в 0,5 мл соответствующего растворителя и записывали спектр <sup>31</sup>P-ЯМР. Фосфонат (III) перед растворением в хинолине с CH<sub>3</sub>CN высущивали в вакууме (1 мм рт. ст.) над P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Далее запись спектров реакционных смесей повторяли после каждого очередного прибавления Me<sub>3</sub>CCOCl или спирта (EtOH или MeOH) через указанные промежутки времени — см. подписи под рис. 1–3.

*Взаимодействие диэфира (X) с триметилацетилхлоридом и этанолом в хинолине с ацетонитрилом (2 : 1).* Диэфир (X) получали конденсацией 35 мг (0,05 ммоль) Н-фосфоната (III) и 0,009 мл (0,15 ммоль) EtOH в присутствии 0,016 мл (0,125 ммоль) Me<sub>3</sub>CCOCl в хинолине с ацетонитрилом (0,5 мл, 2 : 1). Через 3 мин записали спектр <sup>31</sup>P-ЯМР смеси: δ<sub>р</sub> 6,34, <sup>1</sup>J<sub>P,H</sub> 712. Прибавляли к раствору 0,035 мл (0,275 ммоль) Me<sub>3</sub>CCOCl и записывали спектры через 1 ч (картина не изменилась) и через 120 ч (см. рис. 3, 7).

*(2-Ацетамидо-2-дезоксид-3,4,6-три-О-бензоил-α-D-глюкопиранозил)метилфосфат, триэтиламмониевая соль (XIIIa).* Водородфосфонат (IV) (0,05 ммоль) в пиридине последовательно обрабатывали пивалоилхлоридом

(0,15 ммоль), метанолом (1,85 ммоль) и вновь пивалоилхлоридом (0,15 ммоль). Полученную смесь (спектр  $^{31}\text{P}$ -ЯМР — см. рис. 2, 6) окисляли иодом в 95% водном пиридине (спектр продуктов окисления:  $\delta_{\text{P}}$  0,49; 3,22 (4 : 1)). Раствор выливали на лед, разбавляли хлороформом (50 мл), промывали 0,5 М  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  ( $2 \times 25$  мл), 0,5 М ТЕАВ ( $2 \times 25$  мл), высушивали и упаривали. Из остатка методом КХ в дихлорметане (содержащем 1% триэтиламина) с метанолом ( $2 \rightarrow 16\%$  MeOH) выделили 15 мг фосфодиэфира (XIIIa),  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +29,1^\circ$  (с 1, хлороформ),  $R_f$  0,25 (A). Спектр  $^1\text{H}$ -ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ ): 1,33 (т, 9H,  $\text{CH}_3\text{CH}_2$ ,  $J$  6,7), 1,88 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 3,05 (к, 6H,  $\text{CH}_3\text{CH}_2$ ), 3,69 (д, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ,  $J_{\text{H,P}}$  10,9), 4,37 (дд, 1H, H6a,  $J_{5,6a}$  4,0,  $J_{6a,6b}$  12,0), 4,57—4,69 (м, 3H, H2, H5, H6b), 5,66 (дд, 1H, H1,  $J_{1,2}$  3,1,  $J_{1,P}$  7,5), 5,73 (т, 1H, H4,  $J_{3,4} = J_{4,5} = 9,9$ ), 5,84 (т, 1H, H3,  $J_{2,3}$  9,9), 6,89 (д, 1H, NH,  $J_{2,\text{NH}}$  9,2), 7,30—8,10 (м, 15H,  $\text{C}_6\text{H}_5$ ). Спектр  $^{31}\text{P}$ -ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ ):  $-0,37$ .

**Выделение диэтилфосфата (XXVII) и тетра-О-бензил-D-маннозы (XXVIII).** 70 мг (0,1 ммоль) водородфосфоната (III) в 0,8 мл пиридина последовательно обрабатывали 0,038 мл (0,3 ммоль)  $\text{Me}_3\text{CCOCl}$  и через 5 мин 0,018 мл (0,3 ммоль) EtOH. Через 120 ч смесь (спектр  $^{31}\text{P}$ -ЯМР — см. рис. 1, II) окисляли 50 мг (0,2 ммоль) иода в 1 мл 95% водного пиридина, разбавляли 70 мл  $\text{CHCl}_3$  и экстрагировали водой ( $3 \times 25$  мл). Водные экстракты упаривали до 20—30 мл, обрабатывали катионитом Dowex 50W  $\times$  4 ( $\text{Na}^+$ ) 2 ч при  $20^\circ\text{C}$ , катионит отфильтровывали, фильтрат упаривали. Полученный диэтилфосфат натрия (XXVII) был идентичен стандартному образцу по данным ТСХ и ЯМР:  $R_f$  0,50 (A); спектр  $^1\text{H}$ -ЯМР ( $\text{D}_2\text{O}$ ): 1,36 (т, 6H,  $\text{CH}_3$ ), 4,03 (квintет, 4H,  $\text{CH}_2$ ,  $J_{\text{H,P}} = J_{\text{H,H}} = 7,1$ ); спектр  $^{31}\text{P}$ -ЯМР ( $\text{D}_2\text{O}$ ): 1,23. Органический слой промывали 0,5 М  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ , 0,5 М ТЕАВ, высушивали и упаривали. Из остатка методом колоночной хроматографии в дихлорметане с метанолом ( $0 \rightarrow 2\%$  MeOH) выделили 36 мг (XXVIII) (67%, сироп), идентичного стандартному образцу [16] по данным ТСХ и ЯМР:  $R_f$  0,70 (B); спектр  $^{13}\text{C}$ -ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ ): 69,9 (C6), 71,7 (C5), 72,2 ( $\text{CH}_2$ ), 72,7 ( $\text{CH}_2$ ), 73,4 ( $\text{CH}_2$ ), 74,7 (C2), 75,1 ( $\text{CH}_2$ ), 75,2 (C4), 79,8 (C3), 92,7 (C1), 127,6—128,6 (Ph), 138,3 (Ph), 138,6 (Ph). Лит. данные см. [4].

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Уткина Н. С., Николаев А. В., Шубаев В. Н. // Биоорг. химия. 1991. Т. 17 № 4. С. 531—539.
2. Garegg P. J., Regberg T., Stawinski J., Stromberg R. // Chem. scr. 1985. V. 25. № 5. P. 280—282.
3. Froehler B. C., Matteucci M. D. // Tetrahedron Lett. 1986. V. 27. № 4. P. 469—472.
4. Николаев А. В., Рябцева Е. В., Шубаев В. Н., Кочетков Н. К. // Биоорг. химия. 1989. Т. 15. № 12. С. 1649—1659.
5. Nikolaev A. V., Ivanova I. A., Shibaev V. N., Kochetkov N. K. // Carbohydr. Res. 1990. V. 204. P. 65—78.
6. Елисеева Г. И., Николаев А. В., Шубаев В. Н., Кочетков Н. К. // Биоорг. химия. 1989. Т. 15. № 8. С. 1140—1143.
7. Николаев А. В., Иванова И. А., Шубаев В. Н. // Биоорг. химия. 1990. Т. 16. № 12. С. 1693—1695.
8. Garegg P. J., Regberg T., Stawinski J., Stromberg R. // Nucleosides and Nucleotides. 1987. V. 6. № 3. P. 655—662.
9. Ефимов В. А., Дубей И. Я. // Биоорг. химия. 1990. Т. 16. № 2. С. 211—218.
10. Arbuzov B. A. // Pure Appl. Chem. 1964. V. 9. № 3. P. 307—326.
11. De Vroom E., Spienburg M. L., Dreef C. E., van der Marel G. A., van Boom J. H. Rec. trav. chim. 1987. V. 106. № 2. P. 65—66.
12. Kuyt-Yeheskiely E., Spienburg M., van den Elst H., Tromp M., van der Marel G. A., van Boom J. H. // Rec. trav. chim. 1986. V. 105. № 11. P. 505—506.
13. Эмсли Дж., Финей Дж., Сатклиф Л. Спектроскопия ЯМР высокого разрешения. М.: Мир, 1969. Т. 2. С. 378—379.
14. Garegg P. J., Lindh I., Stawinski J. // Biophosphates and Their Analogues; Synthesis, Structure, Metabolism, and Activity / Eds Bruzik K. S., Stec W. J. Amsterdam: Elsevier, 1987. P. 89—92.
15. Кочетков Н. К., Дмитриев Б. А., Байрамова Н. Э., Николаев А. В. // Изв. АН СССР. Сер. хим. 1978. № 3. С. 652—656.
16. Koto S., Morishima N., Mijata Y., Zen S. // Bull. Chem. Soc. Jap. 1976. V. 49. № 9. P. 4051—4054.

Поступила в редакцию  
21.I.1991

A. V. NIKOLAEV, I. A. IVANOVA, V. N. SHIBAEV, A. V. IGNATENKO  
FRAGMENTS OF BIOPOLYMERS CONTAINING GLYCOSYL PHOSPHATE  
RESIDUES. 7.  $^{31}\text{P}$  NMR STUDIES ON THE REACTION OF GLYCOSYL  
HYDROGENPHOSPHONATES WITH TRIMETHYLACETYL CHLORIDE  
AND ALCOHOLS

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

Interaction of glycosyl H-phosphonates and  $\text{Me}_3\text{CCOCl}$  was studied with  $^{31}\text{P}$  NMR spectroscopy in pyridine and quinoline solutions. It was shown to lead to the mixed anhydrides and diacyl phosphites, which were converted into the H-phosphonate diesters and the phosphite triesters after addition of alcohol. The diesters reacted slowly with  $\text{Me}_3\text{CCOCl}$  and ethanol to form the phosphite triesters and the C-phosphonate diesters. The glycosyl diethyl phosphite triester in pyridine solution was converted slowly into diethyl H-phosphonate. Possible reaction pathways of glycosyl H-phosphonates and the intermediates are discussed.