



УДК 547.458

© 1993 Л. В. Бакиновский, П. И. Китов,
Н. К. Кочетков

ПРИМЕНЕНИЕ ТРИТИЛ-ЦИАНОЭТИЛИДЕНОВОЙ ПОЛИКОНДЕНСАЦИИ ДЛЯ СИНТЕЗА ПОЛИСАХАРИДОВ КЛАСТЕРНОГО СТРОЕНИЯ

Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского РАН, Москва

Осуществлен синтез триола (VII), аналога триса, послужившего удобной заготовкой для синтеза трехантенных тритиловых эфиров, использование которых в качестве терминаторов в тритил-цианоэтилиденовой поликонденсации позволило синтезировать ряд трехантенных полисахаридов.

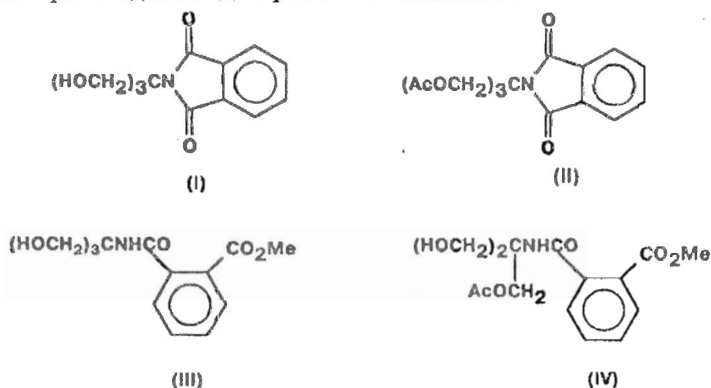
Поликонденсация тритилированных цианоэтилиденowych производных углеводов в присутствии тритилового эфира — акцептора была использована для синтеза полисахаридов в виде гликозидов с функционализированным агликоном [1—5]. На основе гликозида синтетического маннана с агликоном, содержащим свободную аминогруппу, был получен его конъюгат с белком, иммунизация которым привела к образованию антител, специфичных к полисахаридной части неогликопротеина [6]. С целью расширения возможностей указанной реакции мы изучили подходы к синтезу полисахаридов «кластерной» структуры с несколькими углеводными цепями («антеннами»), также содержащих функциональную группу в агликоновой части.

Известно, что двух- и трехантенные олигосахариды обладают повышенной по сравнению с линейными способностью к связыванию со специфическими рецепторами и лектинами [7—9]. Антитела к неогликопротеинам на основе кластерных олигосахаридов проявляют специфическую активность к углеводному эпитопу [10]. Известно также, что аффинность олигосахаридных лигандов может зависеть и от длины олигосахаридной цепи [11]. Полисахариды, обладающие кластерной структурой, могут оказаться полезными как специфические аффинные лиганды и, возможно, в иммунологических исследованиях.

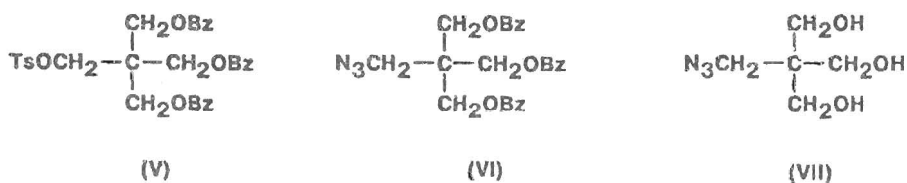
В описанных ранее синтезах кластерных олигосахаридов на основе трис(гидроксиметил)аминометана (триса) использовались его N-ацильные производные и проводилось гликозилирование трех свободных гидроксильных групп [10, 12, 13]. Чтобы служить эффективным акцептором в запланированном синтезе кластерных полисахаридов с использованием тритил-цианоэтилиденовой конденсации, производное триса не должно было содержать NHC=O-группы [14]. Поэтому исходным соединением первоначально был выбран фталимид (I) с учетом того, что превращение фталимидов в свободные амины достаточно хорошо разработано.

Для синтеза соединения (I) была использована методика, близкая к описанной для получения N-фталоиламиносахаров [15]. Реакция триса с фталевым ангидридом в присутствии триэтиламина и последующая обработка уксусным ангидридом в пиридине привели к кристаллическому триацетату (II) с выходом 29%. Однако при деацетилировании этого продукта по Земплеру (метилат натрия в абс. метаноле) попутно происходило и раскрытие фталимидного цикла с обра-

зованием N-(2-метоксикарбонилбензоил)производного (III). При использовании более слабого основания, триэтиламина, также происходил метанолиз фталимидного цикла, предшествующий полному дезацетиливанию, и в смеси продуктов реакции помимо соединения (III) присутствовал и моноацетат (IV). Дезацетилирование триацетата (II) в условиях мягкого кислотного метанолиза [16] также проходило неоднозначно. Поэтому от идеи получения и использования фталимидного производного (I) пришлось отказаться.



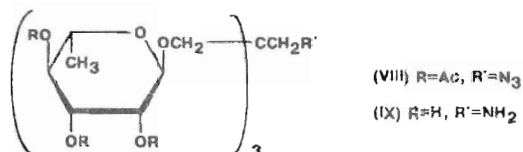
Другой возможный тип акцептора мог представлять собой соединение, в котором роль предшественника амина выполняет азид (совместимость азидной функции с условиями тритил-цианоэтилиденовой конденсации показана в работе [5]). Исходя из пентаэритрита был синтезирован гомолог и азидный аналог триса, соединение (VII):



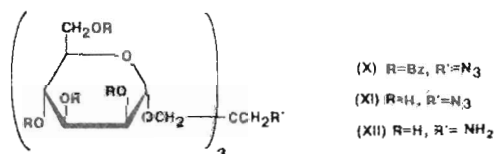
При селективном тозилровании пентаэритрита с последующим бензоилированием получили монотозилат (V), который при замещении тозилосигруппы на азид дал соединение (VI). В его ИК-спектре присутствовала интенсивная полоса поглощения при 2120 см^{-1} , характерная для азидов [17], а в спектре $^1\text{H-ЯМР}$ — два синглета CH_2 -групп. Дебензоилирование триэфира (VI) привело к целевому трис(гидроксиметил)производному (VII). Производное (VII) может служить удобной заготовкой для трехантенного тритилового эфира-акцептора, однако использование для этой цели продукта полного тритилирования триола (VII), по нашему мнению, вряд ли было бы эффективно вследствие сильных пространственных затруднений, избежать которые можно, увеличив расстояние от центра разветвления за счет дополнительного введения углеводной либо алифатической цепи.

Далее была проверена возможность и эффективность трисгликозилирования триола (VII). При проведении реакции триола (VII) с ацетобромрамнозой мы столкнулись с проблемой выделения продукта реакции. Ацетилованный трис(рамнозид) (VIII) при ТСХ на силикагеле обнаруживался в виде сильно-диффузной зоны, что существенно затрудняло его хроматографическую очистку. Спектры $^1\text{H-}$ и $^{13}\text{C-ЯМР}$ соединения (VIII), выделенного с невысоким выходом, адекватны приписываемой ему структуре. Отнесение сигналов в спектре $^{13}\text{C-ЯМР}$ проведено с помощью методик АРТ («тест на присоединенные протоны», позволяющий отличить группы CH и CH_3 от C и CH_2) и GD (съемка спектра без

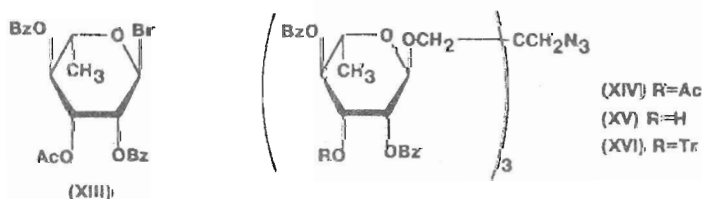
подавления ^1H — ^{13}C -взаимодействия и с использованием эффекта Оверхаузера). В спектре ^1H -ЯМР присутствуют синглет при 3,40 м. д., соответствующий CH_2 -группе, связанной с азидом, и два дублета при 3,30 и 3,66 м. д. с КССВ 10 Гц, принадлежащие протонам CH_2 -O-группы, несущей остаток сахара. Неэквивалентность этих протонов свидетельствует о значительных пространственных затруднениях в молекуле. Интегральная интенсивность сигналов указывает на то, что гликозилированы все три гидроксильные группы в агликоне. После дезацетилирования этого продукта и гидрогенолиза был получен амин (IX) с выходом более 80%.



Гликозилирование триола (VII) действием бензобромманнозы приводит к трис(маннозиду) (X) с выходом 38%, причем это соединение элюируется на силикагеле в виде компактной зоны и его хроматографическое поведение не вызвало сложностей при выделении. Таким образом, с препаративной точки зрения удобнее использование бензоилированных гликозидоноров для синтеза трис-гликозидов. Переход от бензоилированного трис(маннозида) (X) к свободному (XI) и далее к амину (XII) проведен достаточно эффективно.



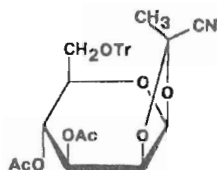
Далее нами был осуществлен синтез углеводсодержащего тритилового эфира-терминатора для использования его в синтезе трехантенных полисахаридов. Для этого триол (VII) был гликозилирован действием моноацетильного производного (XIII) [2] с образованием трис(рамнозида) (XIV), выход которого составил около 80%. Таким образом, сравнение азидотриола (VII) с применявшимися ранее производными триса [10, 12, 13] показало, что он может быть успешно использован как акцептор в трис-гликозилировании, вероятно, за счет его лучшей растворимости в таких растворителях, как ацетонитрил, нитрометан, дихлорметан.



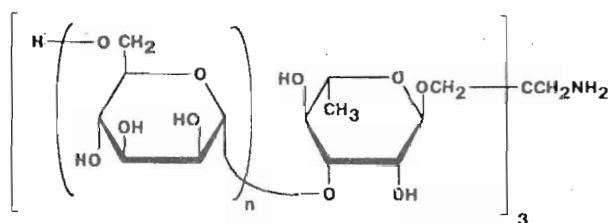
С помощью мягкого кислотного метанолиза [16] продукт (XIV) был избирательно дезацетилирован, а последующее тритилирование трис(гидроксильного) производного (XV) привело к необходимому трис(тритиловому) эфиру (XVI), который был использован в качестве тридентатного акцептора для синтеза трехантенных полисахаридов.

Поликонденсация мезомера (XVII) [18] в присутствии 0,033 моль-экв. тритилового эфира (XVI) и 0,1 моль-экв. трифторметансульфоната серебра (AgOTf) в качестве инициатора приводит после соответствующей обработки (см. эксперимент) к полисахаридному продукту (XVIII), содержащему остатки маннозы, присоединенные по O-3 рамнозы, которая, в свою очередь, связана с тридентатным

спейсером. Спектр ^{13}C -ЯМР полученного продукта содержит значительное количество сигналов в аномерной области, что свидетельствует о его полидисперсности. По данным анализа методом метилирования [19], средняя степень замещения рамнозы маннозными цепями составляет 84%, а длина этих цепей, судя по данным кислотного гидролиза, составляет 2—3 остатка маннозы.

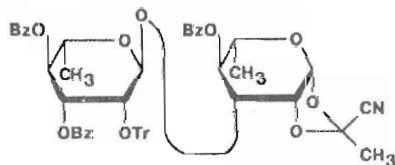


(XVII)

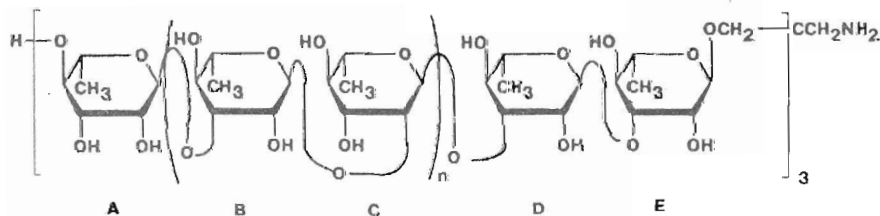


(XVIII)

Синтез рамнозосодержащего тритилового эфира-терминатора (XVI) был принят также для получения аналога полисахарида стрептококка варианта А [20], имеющего в отличие от природного кластерную структуру. С этой целью была проведена поликонденсация мономера (XIX) [21] в присутствии 0,033 моль-экв. терминатора (XVI) и 0,1 моль-экв. инициатора AgOTf .



(XIX)



(XX)

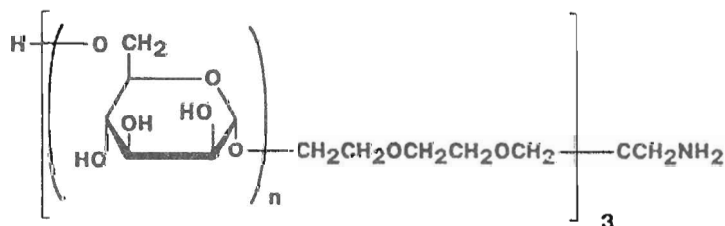
После омыления и гидрогенолиза продукта поликонденсации был получен полисахарид (XX) с выходом 8,3%. Аномерная область спектра ^{13}C -ЯМР полученного полисахарида содержит пять сигналов, соответствующих шести типам рамнозных остатков (А—Е в формуле (XX) и «агликоновому» остатку рамнозы как в трис(рамнозиде) (IX)). Идентификация сигналов проведена на основе сравнения со спектрами синтетических полисахаридов линейного строения и



(XXVI)

(XXVII)

В результате поликонденсации мономера (XVIII) в присутствии терминатора (XXVII) и инициатора AgOTf после снятия ацильных защит и гидрирования азидной группы был выделен полисахарид (XXVIII) с выходом 28%. Отнесение спектра ^{13}C -ЯМР проведено на основе сравнения со спектрами синтетического (1—6)- α -D-маннана [18] и метил- α -D-маннопиранозида [25]. Спектр ^{13}C -ЯМР продукта (XXVIII) содержал два сигнала в аномерной области в соотношении 6 : 1, сигнал при 100,45 м. д. принадлежит C-1 маннозы в цепи и на невосстанавливающем конце, а сигнал при 101,29 м. д. соответствует C-1 маннозного остатка, связанного со спейсером. Из соотношения интенсивностей данных сигналов следовало, что полученный полисахарид содержал цепи (1—6)- α -D-маннана со средней степенью поликонденсации 6.



(XXVIII)

Для оценки степени замещения гидроксильных групп спейсера полисахаридными цепями мы воспользовались следующей процедурой: с помощью аналитической реакции с пикрилсульфоновой кислотой [26] было определено содержание аминогруппы в образце, т. е. среднечисловая молекулярная масса. С учетом найденной из данных ^{13}C -ЯМР-спектра степени поликонденсации была рассчитана степень замещения, которая оказалась равной 90%.

Приведенные данные показывают возможность получения полисахаридов с агликонами кластерного строения. Наиболее эффективным представляется проведение поликонденсации с использованием тридентатного алифатического акцептора.

Экспериментальная часть

Колончатую хроматографию (КХ) проводили на силикагеле Kieselgel 60 (Merck), гель-хроматографию — на колонке с TSK-40 HW(S). Для ТСХ использовали пластинки с силикагелем Kieselgel 60 (Merck), вещества обнаруживали опрыскиванием 70% H_2SO_4 с последующим нагреванием при $\sim 150^\circ\text{C}$. Спектры ЯМР снимали на приборах Bruker WM-250 и Bruker AM-300 в CDCl_3 ; приведены химические сдвиги (δ , м. д.) относительно Me_4Si и константы спин-спинового взаимодействия (J , Гц). Оптическое вращение определяли на автоматическом поляриметре JASCO DIP-360 при 25—27° С в хлороформе. ГЖХ проводили на хроматографе Hewlett — Packard 5890 с пламенно-ионизационным детектором на колонке Ultra-1 при 185° С. Трифлат серебра получали как описано в [27].

Трис(ацетоксиметил)фталимидометан (II). К раствору 1,21 г (40 ммоль) триса (использовали препарат отечественного производства марки ч.) в 5 мл воды добавляли при перемешивании 1,48 г (10 ммоль) фталевого ангидрида, 5 мл диоксиана и затем по каплям 1,5 мл (10,8 ммоль) Et_3N , при этом смесь стала гомогенной. Раствор упаривали, соупаривали с абс. пиридином и толуолом.

Сиропообразный остаток растворяли в 5 мл пиридина, добавляли 10 мл (100 ммоль) As_2O и оставляли на ночь. К охлажденной до 0°C реакционной смеси прибавляли по каплям 5 мл MeOH , выдерживали 30 мин при 20°C и выливали в воду (300 мл). Раствор с осадком экстрагировали толуолом (2×40 мл), экстракт упаривали и остаток (1,44 г) перекристаллизовывали из смеси этилацетат — гептан. Выход 1,1 г (29%), т. пл. $116\text{--}117^\circ\text{C}$. Спектр ^1H -ЯМР: 1,97 (с, 9H, CH_3CO), 4,77 (с, 6H, CH_2O), 7,705 (м, 4H, ароматика). Спектр ^{13}C -ЯМР: 20,58 (CH_3CO), 60,62 (CH_2O), 63,38 (C—N), 123,20; 131,32; 134,32 (ароматика), 168,78; 170,03 (C=O). Найдено, %: C 57,51; H 5,31; N 3,91. $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{NO}_8$. Вычислено, %: C 57,29; H 5,07; N 3,71.

Деацетилирование трис(ацетоксиметил)фталимидометана (II). 1. К раствору 10 мг трис(производного) (II) в 2 мл смеси толуол — абс. MeOH (1 : 3) прибавляли 0,1 М метанольный раствор MeONa до 1 мМ концентрации. Через 10 мин при 20°C в реакционной смеси с помощью ТСХ обнаруживали единственный продукт с R_f 0,23 (CHCl_3 — MeOH , 9 : 1). Смесь нейтрализовывали катионитом КУ-2 (H^+), упаривали. После перекристаллизации остатка из смесей MeOH — CHCl_3 — Et_2O и MeOH — Et_2O получали трис(гидроксиметил)-(2-метоксикарбонилбензамидо)метан (III), т. пл. $152\text{--}154^\circ\text{C}$. Спектр ^1H -ЯМР (CDCl_3 — $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$): 3,80 (с, COOCH_3), 4,27 (с, CH_2), 7,3—7,5 и 7,8—7,95 (2м, ароматика). Найдено, %: C 55,42; H 6,23; N 5,18. $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{NO}_6$. Вычислено, %: C 55,12; H 6,05; N 4,94.

2. Вместо MeONa использовали 10% раствор Et_3N и выдерживали реакционную смесь в течение 3 ч при 20°C . По данным ТСХ (CHCl_3 — MeOH , 9 : 1), в смеси присутствовало 4 продукта с R_f 0,70; 0,52; 0,38 и 0,23, последний совпадает по подвижности с продуктом, полученным в предыдущем эксперименте. Продукт с R_f 0,38, выделенный с помощью КХ в системе CHCl_3 — MeOH , представляет собой ацетоксиметил-бис(гидроксиметил)-(2-метоксикарбонилбензамидо)метан (IV). Спектр ^1H -ЯМР: 2,10 (с, 3H, CH_3CO), 3,90 (с, 3H, CH_3O), 3,70—4,10 (м, 4H, CH_2OH), 4,41 (с, 2H, CH_2OAc), 6,43 (с, 1H, NH), 7,40—7,60 (м, 3H, ароматика), 7,95 (дд, 1H, ароматика).

1,1,1-Трис(бензоилоксиметил)-2-тозилоксизтан (V). К суспензии 1,36 г (10 ммоль) пентаэритрита в 30 мл пиридина при кипячении и перемешивании медленно прибавляли 1,9 г (10 ммоль) TsCl , при этом осадок растворялся. Через 1 ч к смеси добавляли 8 мл BzCl , через 30 мин прибавляли 5 мл воды, упаривали часть пиридина в вакууме, прибавляли 200 мл CHCl_3 и промывали 10% HCl , водой, насыщенным раствором NaHCO_3 , водой и упаривали. После КХ остатка в системе бензол — эфир выход продукта 2 г (33%), т. пл. $90\text{--}100^\circ\text{C}$. Спектр ^1H -ЯМР: 1,89 (с, 3H, CH_3), 4,19 (с, 2H, CH_2OTs), 4,35 (с, 6H, CH_2OBz).

1-Азидо-2,2,2-трис(бензоилоксиметил)этан (VI). Раствор 700 мг (1,16 ммоль) тозилного производного (V), 151 мг (2 экв.) NaN_3 и 50 мг Bu_4NI в 3 мл DMF перемешивали 3 ч при $80\text{--}90^\circ\text{C}$. К смеси прибавляли 100 мл CHCl_3 , промывали водой и упаривали. После КХ в системе этилацетат — гексан и перекристаллизации из MeOH выход азиды (VI) 390 мг (71%), т. пл. $88\text{--}89^\circ\text{C}$. Спектр ^1H -ЯМР: 3,81 (с, 2H, CH_2N_3), 4,61 (с, 6H, CH_2OBz). ИК-спектр: 2120 cm^{-1} (хлороформ).

3-Азидо-2,2-дигидроксиметилпропанол (VII). К раствору 316 мг (0,67 ммоль) соединения (VI) в 2 мл CH_2Cl_2 и 6 мл MeOH прибавляли 0,1 мл 1 М MeONa . Через 30 мин при 50°C смесь нейтрализовали КУ-2 (H^+), катионит отделяли и смесь упаривали. Остаток растворяли в 10 мл MeOH , промывали гексаном (5×30 мл), упаривали и остаток высушивали в вакууме. Выход азидотриола (VII) 105 мг (97%), сироп. Спектр ^1H -ЯМР: 3,51 (с, 2H, CH_2N_3), 3,64 (с, 6H, CH_2OH).

1-Азидо-2,2,2-трис(2,3,4-три-О-ацетил- α -L-рамнопиранозилоксиметил)этан (VIII). Полученное гидроксильное производное (VII) (100 мг, 0,62 ммоль) растворяли при перемешивании в 2 мл MeCN , прибавляли 892 мг (2 экв.) $\text{Hg}(\text{CN})_2$, 100 мг HgBr_2 и по каплям в течение 1 ч прибавляли раствор 1,52 г (4,3 ммоль)

ацетобромрамнозы в 4 мл MeCN. Через 8 ч прибавляли 100 мл CHCl_3 , промывали насыщенным раствором KI, водой и упаривали. После КХ в системе бензол — эфир выход трисахарида (VIII) 125 мг (20%). Спектр ^1H -ЯМР: 1,20 (д, 9H, CH_3), 1,94; 2,00; 2,10 (3с, 27H, CH_2CO), 3,30 (д, 3H, $J_{\text{гем}} 10$, CH_2OSug), 3,40 (с, 2H, CH_2N_3), 3,66 (д, 3H, CH_2OSug), 3,77 (дк, 3H, $J_{5,6} 6,5$; $J_{4,5} 10$, H-5), 4,68 (с, 3H, H-1), 5,01 (т, 3H, $J_{3,4} 10$, H-4), 5,11—5,18 (м, 6H, H-2, H-3). Спектр ^{13}C -ЯМР: 17,39 (CH_3), 20,68; 20,74; 20,80 (CH_2CO), 44,62 (C четв.), 50,71 (CH_2N_3), 66,10 (CH_2OSug), 66,67 (C-5), 69,11 (C-3), 69,43 (C-2), 70,95 (C-4), 98,31 (C-1), 169,61; 169,91; 170,00 (C=O).

1-Амино-2,2,2-трис(α-L-рамнопиранозилоксиметил)этан (IX). К раствору 125 мг (0,128 ммоль) защищенного трис(рамнозида) (VIII) в 5 мл абс. MeOH прибавляли 1 мл 1 М MeONa. Через 3 ч при 50° С смесь нейтрализовывали КУ-2 (H⁺), отделяли катионит и упаривали. Остаток подвергали гидрогенолизу (5% Pd/C, MeOH—AcOH (5 : 2), 20° С, 24 ч). После отделения катализатора смесь упаривали. Остаток наносили на колонку с катионитом Bio-Rad AG 50×2 (H⁺) (5 мл), колонку промывали водой, затем смывали основную фракцию 1 М водн. NH_3 и упаривали. После гель-хроматографии выход 60 мг (82%). Спектр ^{13}C -ЯМР: 17,87 (C-6), 48,93 (C четв.), 60,39 (CH_2NH_2), 68,55 (CH_2OSug), 70,05 (C-5), 71,33 (C-3), 71,69 (C-2), 73,28 (C-4), 101,82 (C-1).

1-Азидо-2,2,2-трис(2,3,4,6-тетра-О-бензоил-α-D-маннопиранозилоксиметил)этан (X). К раствору 83 мг (0,53 ммоль) трис(гидроксильного) производного (VII) в 3 мл MeCN прибавляли 1 г $\text{Hg}(\text{CN})_2$, 100 мг HgBr_2 и 0,6 г молекулярных сит 4 Å, затем в течение 1 ч — раствор 1,45 г (2,2 ммоль) 2,3,4,6-тетра-О-бензоил-α-D-маннопиранозилбромид [28] в 6 мл MeCN. Через 16 ч смесь фильтровали через целит, добавляли 100 мл CHCl_3 , промывали насыщенным раствором KBr, водой и упаривали. После КХ выход защищенного трис(маннозида) (X) 389 мг (38,4%), $[\alpha]_D -25,8^\circ$ (с 1,8; хлороформ). Спектр ^1H -ЯМР: 3,76 (д, 3H, $J_{\text{гем}} 10$, CH_2OSug), 3,775 (д, 1H, $J_{\text{гем}} 12,5$; CH_2N_3), 3,86 (д, 1H, CH_2N_3), 4,065 (д, 3H, CH_2OSug), 4,58 (м, 3H, H-5), 4,65 (дд, 3H, $J_{6a,5} 4$, H-6a), 4,85 (дд, 3H, $J_{6b,5} 2$, $J_{6a,6b} 12$, H-6b), 5,29 (д, 3H, $J_{1,2} 1,5$, H-1), 5,80 (дд, 3H, $J_{2,3} 3,5$, H-2), 5,95 (дд, 3H, $J_{3,4} 10$, H-3), 6,23 (т, 3H, $J_{4,5} 10$, H-4), 7,1—8,2 (м, 60H, OBz). Спектр ^{13}C -ЯМР: 44,77 (C четв.), 51,14 (CH_2N_3), 67,76 (C-6), 66,49 (CH_2OSug), 67,07 (C-4), 69,69 (C-5), 70,33 (C-2, C-3), 98,73 (C-1).

1-Азидо-2,2,2-трис(α-D-маннопиранозилоксиметил)этан (XI). К раствору 389 мг (0,2 ммоль) защищенного трис(маннозида) (X) в 5 мл абс. MeOH прибавляли 1 мл 1 М MeONa. Через 24 ч смесь нейтрализовывали КУ-2 (H⁺), упаривали, остаток растворяли в 10 мл воды, промывали гексаном (3×30 мл) и упаривали. После гель-хроматографии выход продукта 93 мг (72%). Спектр ^{13}C -ЯМР: 45,06 (C четв.), 52,73 (CH_2N_3), 62,08 (C-6), 67,99 (C-4, CH_2OSug), 71,17 (C-2), 71,87 (C-3), 74,13 (C-5), 101,53 (C-1).

1-Амино-2,2,2-трис(α-D-маннопиранозилоксиметил)этан (XII). Азидопроизводное (XI) подвергали гидрогенолизу (5% Pd/C, AcOH — вода (8 : 2), 24 ч, 20° С). Смесь отделяли от катализатора, упаривали и наносили на колонку с катионитом Bio-Rad AG 50×2 (H⁺) (5 мл). Колонку промывали водой (100 мл), затем смывали основную фракцию 1 М водн. NH_3 . После гель-хроматографии выход 60 мг (67%). Спектр ^{13}C -ЯМР: 42,70 (C четв.), 62,02 (C-6), 67,88 (C-4), 68,52 (CH_2OSug), 70,69 (C-2), 71,75 (C-3), 74,26 (C-5), 101,38 (C-1).

1-Азидо-2,2,2-трис(3-О-ацетил-2,4-ди-О-бензоил-α-L-рамнопиранозилоксиметил)этан (XIV) получали аналогично соединению (X). Выход 79,5%, $[\alpha]_D +43,2^\circ$ (с 1,8; хлороформ). Спектр ^1H -ЯМР: 1,44 (д, 9H, $J_{6,5} 6,5$, H-6), 1,94 (с, 9H, CH_3CO), 3,60 (д, 3H, $J_{\text{гем}} 10$, CH_2OSug), 3,69 (с, 2H, CH_2N_3), 3,95 (д, 3H, CH_2OSug), 4,16 (дк, 3H, $J_{5,4} 10$, H-5), 5,09 (д, 3H, $J_{1,2} 1,5$, H-1), 5,50 (т, 3H, $J_{4,3} 10$, H-4), 5,56 (дд, 3H, $J_{2,3} 3$, H-2), 5,60 (дд, 3H, H-3). Спектр ^{13}C -ЯМР: 17,84 (C-6), 20,72 (CH_3CO), 44,97 (C четв.), 50,92 (CH_2N_3), 66,42 (CH_2OSug), 67,39 (C-5), 69,29 (C-3), 70,40 (C-4), 98,62 (C-1).

1-Азидометил-2,2,2-трис (2,4-ди-О-бензоил- α -L-рамнопиранозилоксиметил)-этан (XV). К 10 мл абс. MeOH при 0° С прибавляли 0,4 мл AcCl, затем раствор 830 мг (0,6 ммоль) соединения (XIV) в 2 мл абс. CH₂Cl₂. Выпавший осадок при дальнейшем перемешивании растворился. Через 24 ч к смеси прибавляли 30 мл насыщенного водн. NaHCO₃, экстрагировали CHCl₃, экстракт упаривали. После КХ выход 590 мг (80%). Спектр ¹H-ЯМР: 1,40 (д, 9H, J_{6,5} 6, H-6), 2,70 (д, 3H, J_{3,OH} 7,5, OH), 3,59 (д, 3H, J_{gem} 10, CH₂OSug), 3,61 (с, 2H, CH₂N₃), 3,86 (д, 3H, CH₂OSug), 4,11 (дк, 3H, J_{5,4} 10, H-5), 4,34 (дд, 3H, J_{3,4} 10, J_{3,2} 3,5, H-3), 5,09 (д, 3H, J_{1,2} 1,5, H-1), 5,31 (дд, 3H, H-2). Спектр ¹³C-ЯМР: 17,87 (C-6), 44,81 (C четв.), 51,15 (CH₂N₃), 66,60 (CH₂OSug), 67,03 (C-5), 69,14 (C-3), 73,02 (C-2), 75,28 (C-4), 98,28 (C-1).

1-Азидо-2,2,2-трис(2,4-ди-О-бензоил-3-О-тримил- α -L-рамнопиранозилоксиметил)-этан (XVI). Трис(гидроксильное) производное (XV) (590 мг, 0,48 ммоль) растворяли в 4 мл абс. CH₂Cl₂, прибавляли 0,3 мл (2,27 ммоль) 2,4,6-коллидина и небольшими порциями 600 мг (1,75 ммоль) TgClO₄. Через 3 ч прибавляли каплю MeOH и 100 мл CHCl₃, промывали насыщенным водн. NaHCO₃, водой и упаривали. После КХ в бензоле и ВЭЖХ в системе этилацетат — гексан выход тритилового эфира (XVI) 330 мг (35%), [α]_D +12,3° (с, 0,6). Спектр ¹H-ЯМР: 1,23; 1,26; 1,29 (3д, 9H, J_{6,5} 4, H-6), 3,08 (д, 3H, J_{gem} 10, CH₂OSug), 3,12 (с, 2H, CH₂N₃), 3,38 (д, 3H, CH₂OSug), 3,71 (дк, 3H, J_{5,4} 10, H-5), 4,07 (дд, 3H, J_{3,4} 10, J_{3,2} 3, H-3), 4,41 (дд, 3H, J_{1,2} 1,5, H-2), 4,78 (д, 3H, H-1), 5,80 (т, 3H, H-4). Спектр ¹³C-ЯМР: 18,04 (C-6), 44,25 (C четв.), 51,00 (CH₂N₃), 66,57 (CH₂OSug), 67,36 (C-5), 70,34 (C-3), 71,69 (C-2), 72,69 (C-4), 87,45 (Ph₃CO), 97,71 (C-1).

О-Тритилдиэтиленгликоль. Растворяли 22 г (69 ммоль) TgCl в смеси 30 мл (316 ммоль) сухого диэтиленгликоля и 50 мл абс. пиридина. Через 3 сут при 20° С выливали смесь в 200 мл насыщенного водн. NaHCO₃, экстрагировали CHCl₃, экстракт упаривали. После перекристаллизации из этилацетата получали 4,7 г продукта. После КХ из маточного раствора выделяли еще 9,1 г. Общий выход 13,8 г (57%), т. пл. 114° С.

1-Метокси-5-тритилокси-3-оксапентан (XXII). К смеси 700 мг (2 ммоль) монотритильного производного диэтиленгликоля и 800 мг NaH (50%) в 4 мл сухого DMF прибавляли раствор 0,371 мл MeI (3 экв.) в 2 мл DMF. Через 20 мин прибавляли 1 мл MeOH, выливали в воду, экстрагировали этилацетатом, экстракт промывали водой, упаривали и высушивали в вакууме. После КХ в системе этилацетат — гексан выход 380 мг (50%) (сироп). Спектр ¹H-ЯМР: 3,28 (т, 2H, J 2,7, CH₂OMe), 3,42 (с, 3H, CH₃), 3,59 (дд, 2H, J 2,5; 5, CH₂OTr), 3,71 (м, 4H, CH₂OCH₂), 7,2—7,5 (м, 15H, ароматика).

1-Тозилокси-5-тритилокси-3-оксапентан (XXVI). Раствор 3,48 г (10 ммоль) монотритильного производного диэтиленгликоля и 2,2 г (11,6 ммоль) TsCl в 10 мл абс. пиридина оставляли на ночь. Смесь выливали в воду, экстрагировали CHCl₃, экстракт упаривали. После КХ в системе бензол — эфир и перекристаллизации из смеси этилацетат — гексан выход 2,55 г (51%), т. пл. 97,5° С. Спектр ¹H-ЯМР: 2,42 (с, 3H, CH₃), 3,22; 3,62; 3,75; 4,22 (3дд, 8H, CH₂), 7,2—7,85 (м, 19H, ароматика).

1-Азидо-2,2,2-трис(7-тритилокси-2,5-диоксагентил)этан (XXVII). К смеси 67 мг (0,416 ммоль) соединения (VII) и 300 мг NaH (50%) в 4 мл сухого DMF прибавляли раствор 755 мг (0,499 ммоль) соединения (XXVI) в 5 мл DMF, через 4 сут прибавляли 1 мл абс. MeOH, смесь выливали в воду со льдом, осторожно подкисляли 2 мл AcOH, экстрагировали CHCl₃ (3×30 мл), экстракт промывали водой, насыщенным водн. NaHCO₃, водой и упаривали. После КХ и ВЭЖХ выход 416 мг (90%). Спектр ¹³C-ЯМР: 45,57 (C четв.), 51,96 (CH₂N₃), 63,44 (CH₂OTr), 70,07 (CH₂C), 70,51; 70,66; 71,08 (CH₂), 86,55 (Ph₃CO).

Конкурентное гликозилирование метил-2,3,4-три-*O*-ацетил-6-*O*-тримил- α -*D*-маннопиранозида (XXI) и 1-метокси-5-тримилокси-3-оксапентана (XXII) 3,4,6-три-*O*-ацетил-1,2-*O*-(экзо-цианоэтилиден)- β -*D*-маннопиранозой (XXIII). Реакцию 169 мг (0,3 ммоль) тримилового эфира (XXI), 109 мг (0,3 ммоль) тримилового эфира (XXII) с 107 мг (0,3 ммоль) цианоэтилиденевого производного (XXIII) проводили с использованием высоковакуумной техники как описано в работе [29] в 1 мл CH_2Cl_2 в присутствии 8 мг (0,03 ммоль) трифлата серебра. Через 16 ч прибавляли 100 мл HCl , промывали водой, раствором $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, водой и упаривали. С помощью КХ в системе бензол — этилацетат выделяли 17,6 мг (9%) метил-2,3,4-три-*O*-ацетил-6-*O*-(2,3,4,6-тетра-*O*-ацетил- α -*D*-маннопиранозил)- α -*D*-маннопиранозида (XXIV) и 72 мг (53%) (3,6-диоксагептил)-2,3,4,6-тетра-*O*-ацетил- α -*D*-маннопиранозида (XXV).

Дисахарид (XXIV), $[\alpha]_D +61,5^\circ$ (с 0,9). Спектр ^1H -ЯМР: 1,99; 2,00; 2,05; 2,08; 2,13; 2,17 \times 2 (6с, 2H, CH_3CO), 3,43 (с, 3H, CH_3O), 3,57 (дд, 1H, $J_{6a,5}$ 2,5, $J_{6a,6b}$ 11, H-6a), 3,79 (дд, 1H, $J_{6b,5}$ 6, H-6b), 3,94 (ддд, 1H, H-5'), 4,08 (ддд, 1H, H-5), 4,13 (дд, 1H, $J_{6'a,5'}$ 2, $J_{6'a,6'b}$ 10, H-6'a), 4,27 (дд, 1H, $J_{6'b,5'}$ 5, H-6'b), 4,69; 4,87 (2д, 2H, $J_{1,2}$ 1,5, H-1, H-1'), 5,16—5,39 (м, 6H, H-2, H-3, H-4, H-2', H-3', H-4'). Спектр ^{13}C -ЯМР: 20,76 (CH_3CO), 55,35 (CH_3O), 97,65; 97,56 (C-1, C-1').

Гликозид (XXV), $[\alpha]_D +42,7^\circ$ (с 1,5). Спектр ^1H -ЯМР: 1,94; 2,00; 2,06; 2,11 (4с, 12H, CH_3CO), 3,33 (с, 3H, CH_3O), 3,47—3,53 (м, 2H, CH_2 агликона), 3,57—3,69 (м, 5H, CH_2 агликона), 3,78 (м, 1H, H-5), 4,00—4,09 (м, 2H, H-6, CH_2 агликона), 4,25 (дд, 1H, $J_{6',5}$ 5, $J_{6',6}$ 12,5, H-6'), 4,83 (д, 1H, $J_{1,2}$ 2, H-1), 5,19—5,35 (м, 3H, H-2, H-3, H-4).

Синтез полисахаридов. Общая методика синтеза полисахаридов с применением высоковакуумной техники описана в работе [29]. Поликонденсацию 1 ммоль мономера проводили в 3 мл CH_2Cl_2 в присутствии 33 мкмоль терминатора и 26 мг (0,1 ммоль) инициатора AgOTf . Через 24 ч прибавляли каплю 90% водн. CF_3COOH , 100 мл HCl , промывали насыщенным водн. NaHCO_3 , водой и упаривали. Остаток растворяли в 5 мл MeOH , прибавляли 1 мл 1 М метанольного раствора MeONa и оставляли на ночь. Затем смесь нейтрализовали KH_2PO_4 (Н⁺), упаривали, растворяли в 10 мл 80% водн. AcOH и подвергали гидрогенолизу (Pd/C , 40° С, 20 ч). После отделения катализатора смесь упаривали и после ионообменной и гель-хроматографии как описано в [2] получали основную фракцию полисахарида.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Цветков Ю. Е., Бакиновский Л. В., Кочетков Н. К. // Биоорган. химия. 1986. Т. 12. № 8. С. 1144—1146.
2. Цветков Ю. Е., Бухаров А. В., Бакиновский Л. В., Кочетков Н. К. // Биоорган. химия. 1988. Т. 14. № 10. С. 1428—1436.
3. Tsvetkov Yu. E., Bukharov A. V., Baskinovsky L. V., Kochetkov N. K. // Carbohydr. Res. 1988. V. 175. P. C1—C4.
4. Цветков Ю. Е., Бухаров А. В., Бакиновский Л. В., Кочетков Н. К. // Биоорган. химия. 1989. Т. 15. № 2. С. 231—248.
5. Цветков Ю. Е., Бакиновский Л. В., Кочетков Н. К. // Биоорган. химия. 1991. Т. 17. № 11. С. 1534—1549.
6. Макаренко Т. А., Кочарова Н. А., Цветков Ю. Е., Едвабная Л. С., Кширель Ю. А., Бакиновский Л. В., Холодкова Е. В., Станиславский Е. С., Кочетков Н. К. // Бюлл. эксперим. биол. мед. 1990. № 9. С. 293—294.
7. Konnoly D. T., Townsend R. R., Kawaguchi K., Bell W. R., Lee Y. C. // J. Biol. Chem. 1982. V. 257. № 2. P. 939—945.
8. Lee Y. C., Townsend R. R., Hardy M. R., Lonngren J., Arnarp J., Haraldsson M., Lonn H. // J. Biol. Chem. 1983. V. 258. № 1. P. 199—202.

9. Lee R. T., Lee Y. C. // *Glycoconjugate J.* 1987. V. 4. № 4. P. 317—328.
10. Дудукина Т. В., Непогодьев С. А., Бельский Д. М. // *Биохимия.* Т. 55. № 8. С. 1474—1480.
11. Kakehi K., Kojima Y., Suzuki S., Honda S. // *J. Chromatogr.* 1990. V. 502. № 2. P. 297—304.
12. Ketpen H. J. M., Hoes C., van Boon J. H., Spanjer H. H., de Lange J., Langendoen A., van Berkel T. J. C. // *J. Med. Chem.* 1984. V. 27. № 10. P. 1306—1312.
13. Peter M. G., Boldt P. C., Niederstein Y., Peter-Katalinic J. // *Liebigs Ann. Chem.* 1990. № 9. S. 863—869.
14. Овчинников М. В., Байрамова Н. Э., Бакиновский Л. В., Кочетков Н. К. // *Биоорган. химия.* 1983. Т. 9. № 3. С. 401—406.
15. Lemieux R. U., Takeda T., Chung B. Y. // *Amer. Chem. Soc. Symp. Ser.* 1976. V. 39. P. 90—115.
16. Буратова Н. Е., Овчинников М. В., Backinowsky L. V., Kochetkov N. K. // *Carbohydr. Res.* 1983. V. 124. P. C8—C11.
17. Беллами Л. *Инфракрасные спектры сложных молекул.* М: Изд-во иностр. лит., 1963.
18. Бакиновский Л. В., Оселедчик Т. А., Кочетков Н. К. // *Изв. АН СССР. Сер. хим.* 1981. № 6. С. 1387—1390.
19. Нифантьев Н. Э., Бакиновский Л. В., Кочетков Н. К. // *Биоорган. химия.* 1987. Т. 13. № 8. С. 1102—1109.
20. Pritchard D. G., Coligan J. E., Geckle J. M., Evanochko W. T. // *Carbohydr. Res.* 1982. V. 110. P. 315—319.
21. Байрамова Н. Э., Бакиновский Л. В., Кочетков Н. К. // *Изв. АН СССР. Сер. хим.* 1987. № 5. С. 1126—1131.
22. Цветков Ю. Е., Бухаров А. В., Бакиновский Л. В., Кочетков Н. К. // *Биоорган. химия.* 1988. Т. 14. № 10. С. 1428—1436.
23. Watters A. J., Hockett R. C., Hudson C. S. // *J. Amer. Chem. Soc.* 1939. V. 61. P. 1528—1530.
24. Betaneli V. I., Ovhinnikov M. V., Backinowsky L. V., Kochetkov N. K. // *Carbohydr. Res.* 1979. V. 68. P. C11—C13.
25. Bock K., Pedersen C. // *Adv. Carbohydr. Chem. and Biochem.* 1983. V. 41. P. 47.
26. Benjamin D. M., McCormack J. J., Gump D. W. // *Analyt. Chem.* 1973. V. 45. № 8. P. 1531—1534.
27. Russel D. G., Senior J. B. // *Can. J. Chem.* 1980. V. 58. № 1. P. 22—29.
28. Нифантьев Н. Э., Бакиновский Л. В., Липкинд Г. М., Шашков А. С., Кочетков Н. К. // *Биоорган. химия.* 1991. Т. 17. № 4. С. 517—530.
29. Kochetkov N. K., Betaneli V. I., Ovhinnikov M. V., Backinowsky L. V. // *Tetrahedron.* 1981. V. 37. Suppl. 9. P. 145—156.

Поступила в редакцию
14.II.1992

L. V. Backinowsky, P. I. Kitov, N. K. Kochetkov

**APPLICATION OF THE TRITYL-CYANOETHYLIDENE
POLYCONDENSATION METHOD TO THE SYNTHESIS OF CLUSTER
POLYSACCHARIDES**

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

1-Azido-2,2,2-tris(hydroxymethyl)ethane was used for the synthesis of tridentate glycosyl-acceptors. Termination of trityl-cyanoethylidene polycondensation by the above derivatives led to cluster polysaccharides.