



УДК 547.455.623'484.23'632.2 : 542.953

СИНТЕЗ ПОЛИСАХАРИДОВ

VIII. СИНТЕЗ β -1 \rightarrow 6-D-ГЛЮКАНА С ПОМОЩЬЮ НОВОЙ
РЕАКЦИИ ПОЛИКОНДЕНСАЦИИ *

*Бочков А. Ф.,** Обручников И. В., Калинин В. М.,
Кочетков Н. К.*

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

Поликонденсацией циклического кеталя пирувонитрила *D*-глюкозы, содержащей тритильную группу при С-6, в присутствии перхлората трифенилкарбония получен полисахарид β -1 \rightarrow 6-*D*-глюкан.

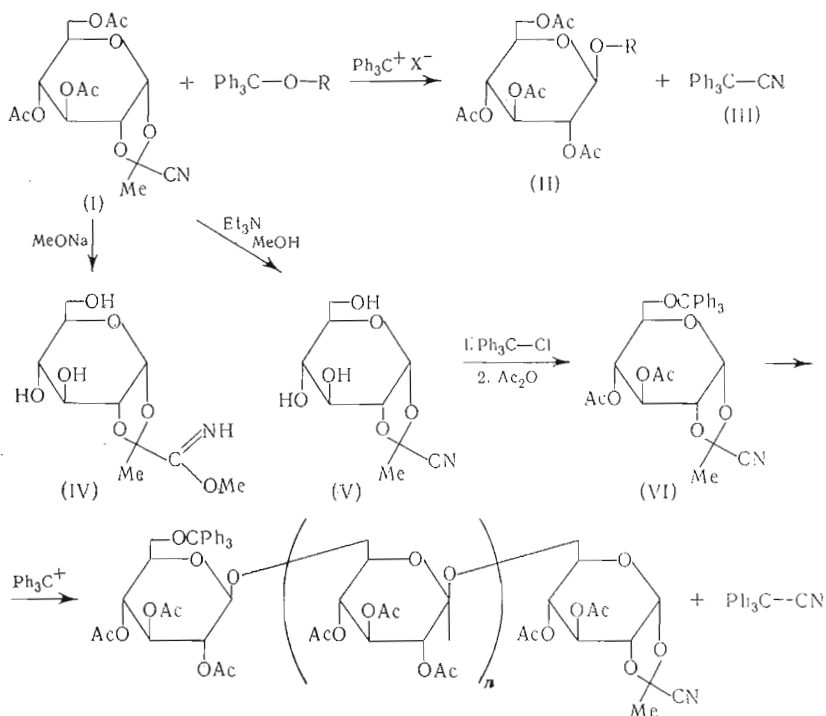
Реакция осложняется побочным образованием триацетата левоглюкозана, способного к полимеризации или сополимеризации с исходным мономером. С помощью меченного ¹⁴C триацетата левоглюкозана изучена кинетика полимеризации; показано, что в оптимальных условиях включение левоглюкозана в полимерную цепь не превышает 0,65%.

Поликонденсация как подход к синтезу регулярных полисахаридов до сих пор не нашла применения, прежде всего из-за отсутствия достаточно эффективного и стереоспецифического метода построения гликозидной связи, пригодного в качестве элементарного акта в реакции поликонденсации. Предложенный недавно метод кеталей пирувонитрила [3] может послужить основой для разработки такой реакции, ведущей к регулярным полисахаридам. Сущность метода состоит в катализируемой карбониевыми ионами конденсации циклического кеталя (I) с тритильными эфирами, ведущей к 1,2-*транс*-гликозиду (II) и трифенилацетонитрилу (III). Можно было полагать, что сочетание в одной и той же молекуле пирувонитрил-кетальной и тритильной функций позволит получить мономер, поликонденсация которого при катализе карбониевыми ионами в условиях, сходных с условиями, описываемыми в работе [3], приведет к образованию стереорегулярного полисахарида. В настоящей работе мы даем первый пример подобного синтеза.

Используя известный кеталь пирувонитрила (I) [4], мы получили простейший представитель указанного выше типа мономеров — 1,2-*O*-(1-цианэтилиден)-3,4-ди-*O*-ацетил-6-*O*-третил- α -*D*-глюкопиранозу (VI). Дезацетилирование кеталя (I) вызвало некоторые затруднения, поскольку стандартное омыление по Земилену приводит к образованию иминоэфира (IV) [5, 6]. Однако в более мягких условиях, с помощью триэтиламина в абс. метаноле, нам удалось получить свободный нитрил (V) с незначительной примесью иминоэфира (IV). Тритилирование кеталя (V) с последующим

* Сообщение VII см. [1]. Краткое сообщение см. [2].

** Настоящий адрес: Институт химической физики Академии наук СССР, Москва.



ацетилированием привело к образованию искомого нитрила (VI), строение которого было подтверждено данными элементного анализа и спектром ПМР, содержащим наряду с сигналами протонов ацетильных групп и ароматических ядер характерный синглет метильной группы пирувонитрила (1,84 м.д. — шкала δ) и дублет протона H1 с характерной для 1,2-диоксолановых производных глюкопиранозы константой спин-спинового взаимодействия 5,0 Гц (ср., например, [7]). Сигналы протонов одной из ацетильных групп этого производного имеют аномально низкий химический сдвиг (1,81 м.д.), что можно связать с влиянием ароматических ядер тритильной группы — у родоначального триацетата (I) химические сдвиги протонов всех трех ацетильных групп имеют обычные значения (около 2,0 м.д. — см. [7] и настоящую работу).

Предварительные эксперименты показали, что поликонденсация нитрила (VI) в условиях, применявшихся в работе [4], действительно имеет место. Одновременно выяснилось, что реакция сопровождается образованием значительного количества (10—20%) триацетата левоглюкозана (VII). Производные типа (VII) являются мономерами в катионной полимеризации [8], протекающей в условиях катализа карбониевыми ионами, близких к описываемым в работе [3]. Следовательно, поликонденсация нитрила (VI) в принципе может сопровождаться протекающей параллельно полимеризацией ангидрида (VII) или даже их сополимеризацией.

В связи с изложенным необходимо было найти условия поликонденсации, в которых образование ангидрида (VII) и его полимеризация были сведены к минимуму при достаточно эффективно протекающей основной реакции. Для контроля за ходом полимеризации синтезировали меченый радиоуглеродом аналог ангидрида (VII). С этой целью *D*-[6-¹⁴C] глюкоза была подвергнута пиролизу в высоком вакууме; сублимат ацетилировали, разбавляли большим количеством немеченого триацетата (VII) и очищали кристаллизацией. Деацетилирование и анализ БХ показали, что более 96% всей радиоактивности содержится в зоне левоглюкозана. Радиационная чистота соединения (VII) была подтверждена также следующим образом: проба меченого ангидрида (VII) была вновь разбавлена

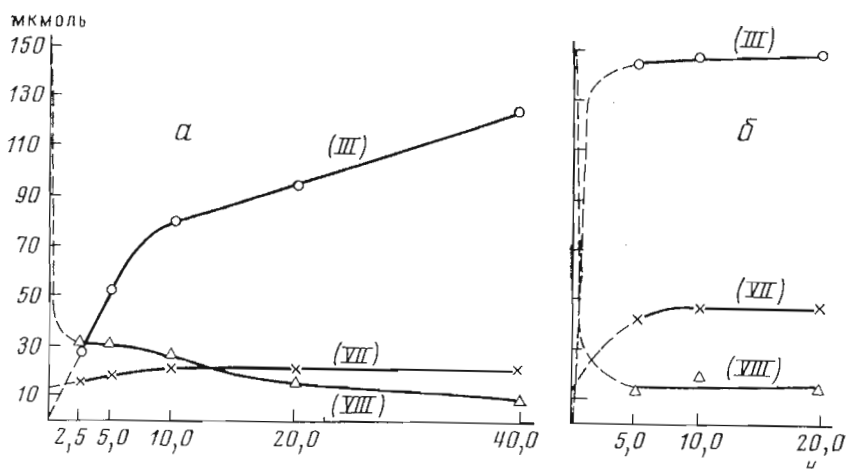
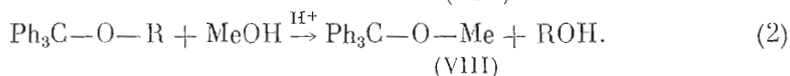
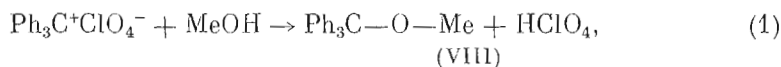


Рис. 1. Состав низкомолекулярных продуктов реакции (данные ГЖХ) при поликонденсации 150 мкмоль нитрила (VI) в присутствии 15 мкмоль меченого ангидрида (VII) и 1,5 (а) или 30 мкмоль (б) перхлората трифенилкарбония

большим избытком немеченого ангидрида (VII), после чего пять последовательных перекристаллизаций лишь незначительно уменьшили удельную активность препарата.

Исследование процесса поликонденсации проводилось с использованием высоковакуумной техники. Раствор кетала (VI) и меченого ангидрида (VII) (10 : 1) в хлористом метиле смешивали с каталитическим количеством перхлората трифенилкарбония; реакционную смесь выдерживали определенное время при комнатной температуре, затем процесс прерывали избытком абс. метанола. При этом происходило образование тритилметилового эфира (VIII) из катализатора (реакция 1) и присутствующих в смеси всех тритиловых эфиров сахаров (реакция 2):



В аликвоте полученных таким образом реакционных смесей с помощью ГЖХ определяли содержание трифенилацетонитрила (III) (глубина реакции поликонденсации), ангидрида (VII) (мера побочного процесса) и тритилметилового эфира (VIII). Другую часть реакционных смесей дезацетилировали по Земплеру и анализировали с помощью БХ. По содержанию радиоуглерода в соответствующих зонах хроматограмм определяли долю вступившего в реакцию ангидрида (VII). При этом за «полисахарид» условно принимали все вещества с хроматографической подвижностью ниже генциобиозы, а за «олигосахарид» — от генциобиозы включительно до глюкозы. С помощью описанной методики реакция была изучена при двух соотношениях мономер — катализатор (100 : 1 и 5 : 1) в зависимости от времени.

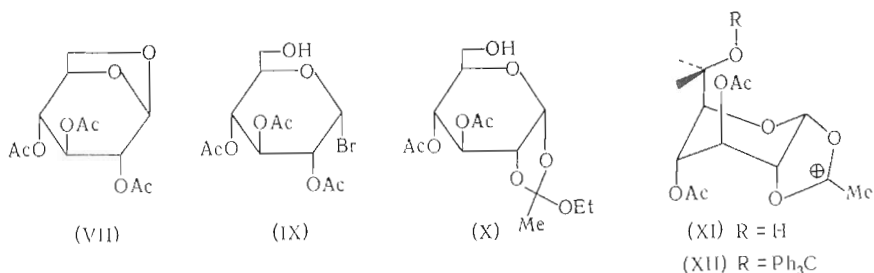
При соотношении мономер — катализатор 100 : 1 реакция за 40 ч не доходит до конца, продолжается рост содержания нитрила (III) и падение содержания эфира (VIII) (рис. 1, а). При соотношении 5 : 1 реакция практически заканчивается за 10 ч (рис. 1, б).

Выход ангидрида (VII) растет лишь на ранних стадиях процесса, после чего стабилизируется на определенном уровне (рис. 1). Однако наблюдается интенсивный перенос метки из ангидрида в продукты поликонденсации (рис. 2). Это указывает на параллельное протекание двух компенсирующих друг друга процессов: расходования взятого в реакцию

меченого (VII) и образования немеченого ангидрида (VII).] При этом образование ангидрида (VII) из мономера (VI) может играть лишь подчиненную роль, поскольку, как видно из сопоставления рис. 1, б и 2, б, прирост выхода нитрила (III) на участке интенсивного переноса метки практически прекращается. Существенно также, что перенос метки происходит лишь после значительного индукционного периода. В этой связи можно предположить, что те или иные накапливающиеся в ходе реакции олиго- и полимеры подвергаются обратимой деполимеризации, ведущей к образованию триацетата (VII). Обратимость такой реакции позволяет легко интерпретировать значительный перенос метки, не сопровождающийся заметным расходом ангидрида, и точную компенсацию процессов образования и расходования последнего вследствие установления равновесия.

Фракционирование продуктов реакции в опыте с максимальным включением метки (рис. 2, б) в условиях, примененных для препаративного выделения полисахарида (см. ниже), показало, что включение метки происходит главным образом в олигомерную фракцию, тогда как содержание метки в полисахариде составляет менее 0,7% введенной в реакцию в виде ангидрида (VII). Таким образом, в изученных условиях образование полисахарида действительно происходит путем поликонденсации мономера (VI), причем участие побочно образующегося ангидрида (VII) в формировании полисахаридной цепи пренебрежимо мало.

Относительно низкий выход ангидрида (VII) в случае кетала (VI) отличает последний от аналогичных мономеров. Действительно, поликонденсация 2,3,4-три-О-ацетил- α -D-глюкопиранозилбромида (IX) ведет преимущественно к образованию ангидрида (VII) [9]. Предпринятая нами попытка поликонденсации 1,2-этилортоацетил-3,4-ди-О-ацетил- α -D-глюкопиранозы (X), полученной из бромида (IX), также привела к ангидриду (VII) как основному продукту реакции. В то же время из механизма элементарных актов реакции во всех трех случаях поликонденсации (см., например, [3] и обзоры [10, 11]) ясно, что эти мономеры должны реагировать через однотипный ацилоксониевый интермедиат (XI, XII).



Причина различий, по-видимому, заключается в следующем: для внутримолекулярного гликозилирования с образованием ангидрида (VII) указанные интермедиаты должны принять конформацию (XI), (XII), сильно напряженную из-за наличия большого числа аксиальных заместителей. Более того, для этой реакции необходим дополнительно напряженный ротamer, в котором заместитель при C₍₆₎ и пиранозный цикл находятся в *цис*-ориентации относительно связи C₍₅₎ — C₍₆₎. Наличие объемистого заместителя в интермедиате (XII) резко дестабилизирует такую конформацию в сравнении с ионом (XI), что и приводит к меньшей вероятности внутримолекулярного гликозилирования в случае кетала (VI) в сравнении с мономерами (IX) и (X).

Описанное выше исследование показало возможность синтеза полисахарида поликонденсацией кетала пирувонитрила (VI), практически не осложненной полимеризацией образующегося побочно ангидрида (VII). Синтез в препаративном масштабе был осуществлен при соотношении мономер — катализатор 5 : 1 (продолжительность — 15 ч). После обработки,

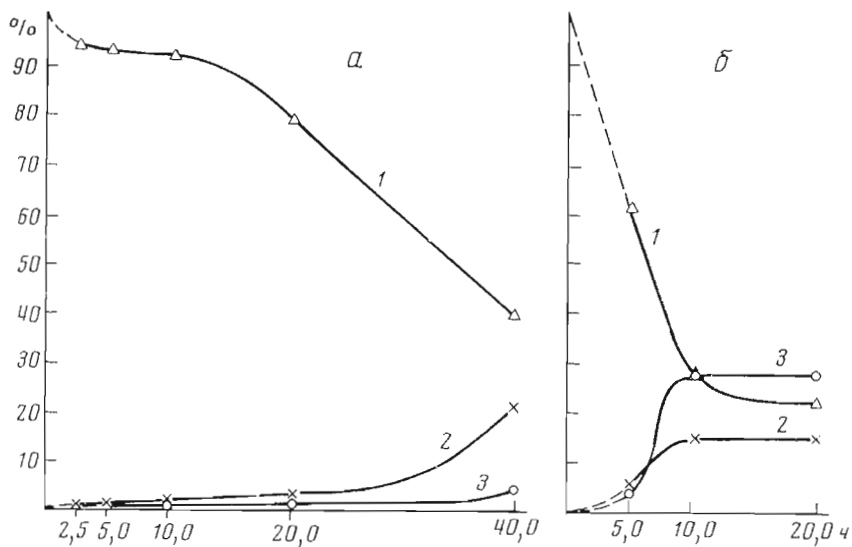


Рис. 2. Распределение радиоактивности (% от введенной в реакционную смесь) в продуктах при поликонденсации 150 мкмоль нитрила (VI) в присутствии 15 мкмоль меченого ангидрида (VII) и 1,5 (а) или 30 мкмоль (б) перхлората трифенилкарбония

аналогичной описанной для аналитических экспериментов, продукты реакции подвергали гель-хроматографии на биогелях Р-4 и Р-10 последовательно. В результате с выходом 13,5% была получена полимерная фракция, названная нами глюкозаном С-5 (о номенклатуре синтетических полисахаридов см. предыдущие статьи этой серии).

Полный кислотный гидролиз полисахарида дает количественно *D*-глюкозу, определенную по методу [12] и по глюкозооксидазе. Далее глюкозан С-5 был подвергнут метилированию по Хакомори [13], формолизу, гидролизу, восстановлению боргидридом натрия и ацетилированию. В полученной смеси ацетатов частично метилированных сорбитов с помощью ГЖХ обнаружены и идентифицированы прямым сравнением со свидетелями 1,5-ди-*O*-ацетил-2,3,4,6-тетра-*O*-метил-*D*-сорбит (XIII), 1,5,6-три-*O*-ацетил-2,3,4-три-*O*-метил-*D*-сорбит (XIV) и 1,2,5,6-тетра-*O*-ацетил-3,4-ди-*O*-метил-*D*-сорбит (XV) в соотношении 1 : 15 : 0,4. Отсутствие изомеров ди- и триметилсорбитов было показано с помощью хромато-масс-спектрометрии.

Образование диметилсорбита (XV) могло быть связано: а) с неполнотой метилирования полисахарида (однако после повторного метилирования состав продуктов метилирования практически не изменился); б) с деметилированием три- и тетраметильных производных глюкозы при формолизе и гидролизе (прямой эксперимент с известными производными не подтвердил этого); в) с метилированием восстанавливающего конца полисахаридных цепей неизвестной структуры; г) с наличием разветвлений в цепи. Выбор между двумя последними возможностями был сделан на основании следующих данных.

Нитрил (I) обрабатывали перхлоратом трифенилкарбония в условиях поликонденсации мономера (VI). Реакцию останавливали: а) смесью абс. метанола с пиридином или б) абс. метанолом. В обеих смесях с помощью ГЖХ были обнаружены известный ранее [4] нитрил 2,6-ангидро-3,4,5,7-тетра-*O*-ацетил-*D*-глицеро-*D*-гулогептоновой кислоты (XVI), идентифицированный прямым сравнением с заводским образцом, и вещество неустановленного строения с временем удерживания большим, чем у нитрила (XVI). Исходный нитрил (I) в смесях отсутствовал. В случае «б» смесь была дезацетилирована, восстановлена боргидридом натрия и подвергну-

та всему циклу операций метилирования по аналогии с глюкозамом С-5. В полученной смеси с помощью ГЖХ были обнаружены ацетаты 2,3,4,6-тетра-О-метил- и 3,4,6-три-О-метил-*D*-сорбитов в примерном соотношении 1 : 1.

Описанные эксперименты показывают, что группировка циклического кетала пирувонитрила не сохраняется к концу процесса и образующиеся полисахаридные цепи неоднородны по структуре восстанавливающих концов. При этом часть из них имеет на восстанавливаемом конце защищенные по положению 2 остатки глюкозы. За счет таких остатков и образуются, по-видимому, метилированные звенья, дающие после расщепления и последующих обработок тетраацетат 3,4-ди-О-метил-*D*-сорбита (XV).

Удельное вращение глюкозана С-5 (-24° в воде) указывает на β -конфигурацию глюкозидных связей. Совпадение этой характеристики с величиной, полученной путем экстраполяции величин удельных вращений генциодекстринов от ди- до гексасахарида [14] к удельному вращению полимера со степенью полимеризации 16, свидетельствует о его стереорегулярности.

Таким образом, глюкозан С-5 является стереорегулярным неразветвленным полисахаридом со среднечисловой степенью полимеризации 16—17, построенным из остатков β -*D*-глюкопиранозы.

Экспериментальная часть

Подготовку Al_2O_3 и основных растворителей выполняли как в работе [15] и предыдущих статьях этой серии. Упаривание растворов в вакууме осуществляли при температуре не выше 40° . Температуры плавления определяли на столике Кофлера. ТСХ проводили на силикагеле в системах $CHCl_3$ — ацетон, 98,5 : 1,5 (А) и бензол — метанол, 4 : 1 (Б), ГЖХ — на хроматографе Pye-105 (колодка 1 м, SE-30 на хромосорбе W, газ-носитель — азот, детектор пламенно-ионизационный), хромато-масс-спектрометрию — на приборе «Varian MAT 111-Gnom» (колодка 1,5 м, SE-30 на варапорте-30, газ-носитель — гелий).

Определение скорости счета на сцинтилляционном счетчике вели в толуольных сцинтилляторах состава: PPO (660 мг), POPOP (16,5 мг), тритон X-100 (23,1 мл), 5%-ная водная трихлоруксусная кислота (10,8 мл), сцинтилляционный толуол (43 мл) (сцинтиллятор А) и PPO (5 г), POPOP (0,2 г), сцинтилляционный толуол (1 л) (сцинтиллятор Б).

Спектры ПМР снимали на спектрометре «Varian DA-60-J1» с гексаметилдисулфидом в качестве внутреннего стандарта. Удельные вращения определяли на поляриметре «Perkin — Elmer-141». Для определения глюкозы использовали глюкозат фирмы «Boehringer».

1,2-O-(1-Цианэтилиден)-3,4,6-три-О-ацетил- α -D-глюкопираноза (I). Синтез выполнен по методу, описанному в работе [4], с небольшими изменениями. Смесь 20,5 г 2,3,4,6-тетра-О-ацетил- α -*D*-глюкопиранозилбромида, 13,4 г $AgCN$ в 200 мл абс. *m*-ксилола кипятили при перемешивании 1 ч, охлаждали, серебряные соли отфильтровывали и промывали ксилолом, объединенные фильтраты упаривали до сиропа. Хроматографией последнего на Al_2O_3 (элюция бензолом) получали 10,1 г (57%) сырого нитрила (I) (R_f 0,4 в системе А) и 2,5 г (15%) сырого нитрила 2,6-ангидро-3,4,5,7-тетра-О-ацетил-*D*-глицеро-*D*-гулогептоновой кислоты (XVI) (R_f 0,3 в системе А). Кристаллизацией кетала (I) из этанола получали 5,5 г (31%) вещества с т. пл. $79-80^\circ$, $[\alpha]_D +13^\circ$ (*c* 1,0; $CHCl_3$). ПМР ($CDCl_3$), δ : 1,87 (3H, C— CH_3 , с), 2,00 (3H, OAc, с), 2,03 (3H, OAc, с), 2,08 (3H, OAc, с), 5,70 (1H, H1, д, $J_{1,2}$ 5). (Ср. данные работ [4,7].)

Кристаллизацией сырого (XVI) из этанола получали 1,9 г (11%) вещества с т. пл. 110° , $[\alpha]_D +5^\circ$ (*c* 1,0; $CHCl_3$). ИК (KBr), ν_{max} : 900, 1750,

2160. ПМР (CDCl_3), δ : 1,98 (6H, 2 OAc, c), 2,03 (6H, 2 OAc, c). (Ср. данные работы [4].)

1,2-O-(1-Цианэтилиден)-3,4-ди-O-ацетил-6-O-тримил- α -D-глюкопираноза (VI). Продукт (I) в количестве 5,5 г растворяли в 64 мл 5%-ного (по объему) раствора Et_3N в абс. MeOH и оставляли на ночь. Раствор упаривали досуха, несколько раз упаривали с абс. метанолом и сушили в вакууме. Остаток (3,5 г) содержит наряду с кеталем (V) примесь иминоэфира (IV) — ТСХ в системе Б, R_f 0,38 и 0,27 соответственно. В 28 мл абс. пиридина растворяли 2 г остатка, прибавляли 2,5 г хлористого третила и оставляли на 5 сут. Раствор охлаждали до 0° , прибавляли 5 мл уксусного ангидрида и оставляли при $0-5^\circ$ на 3 сут. Смесь выливали в ледяную воду, трижды экстрагировали CHCl_3 , промывали ледяной водой, насыщенным водным NaHCO_3 , снова ледяной водой, сушили MgSO_4 и упаривали досуха. Остаток (5 г) хроматографировали на силикагеле (градиент от бензола к CHCl_3), выделяя хроматографически однородный нитрил (VI) — R_f 0,50, система А. Выход 1,8 г (37,5%). Кристаллизацией из этанола получали 1,28 г вещества с т. пл. $130-131^\circ$, $[\alpha]_D +33^\circ$ (с 1,0; CHCl_3). Найдено, %: С 68,62; Н 5,62; N 2,39. $\text{C}_{32}\text{H}_{31}\text{O}_8\text{N}$. Вычислено, %: С 68,93; Н 5,58%; N 2,51. ПМР (CDCl_3), δ : 1,81 (3H, OAc, c), 1,84 (3H, C— CH_3 , c), 2,08 (3H, OAc, c), 5,84 (1H, H1, д, $J_{1,2}$ 5,0), 7,05—7,47 (15H, Ph_3C , м).

1,6-Ангидро-2,3,4-три-O-ацетил- β -D-[6- ^{14}C]глюкопираноза (VII). D-[6- ^{14}C]глюкозу (20 мг, уд. акт. 3 мКи/ммоль) пиролизовали при 10^{-5} мм/Нг в узкой длинной пробирке при $300-400^\circ$. Твердый возгон, собирающийся в холодной зоне прибора, подвергали повторной сублимации в тех же условиях. Сублимат ацетилировали 0,5 мл уксусного ангидрида в 1 мл абс. пиридина (12 ч). Раствор упаривали с толуолом, остаток трижды упаривали с толуолом и смешивали со 150 мг свежеперекристаллизованного немеченого ангидрида (VII). Вещество кристаллизовали из 3 мл этанола и перекристаллизовывали из 1 мл этанола. Получали 120 мг ангидрида (VII), однородного по ТСХ в системе А и ГЖХ (170°). Удельная активность, определенная в сцинтилляторе А с применением [^{14}C] толуола известной удельной активности в качестве внутреннего стандарта, составляла ~ 45 мКи/ммоль; выход (по метке) 5,5%.

Полученный препарат (14,4 мг) разбавляли 850 мг немеченого ангидрида (VII), растворяли в спирте и упаривали досуха. От остатка отбирали пробу (29 мг), остальное количество перекристаллизовывали из 5 мл спирта, отбирали снова 29 мг, остаток перекристаллизовывали и далее операцию повторяли еще 3 раза. Полученные пробы (по 0,1 от каждой) показывают следующие скорости счета (сцинтиллятор А): 12 800, 11 000, 10 900, 10 500 и 10 400 имп/мин. После деацетилирования и анализа БХ в зоне левоглюкозана во всех пробах содержится не менее 93% всей активности.

Поликонденсация нитрила (VI) в присутствии меченого ангидрида (VII) — аналитические опыты. Все опыты выполняли с помощью высоковакуумной техники (подробности описаны в работах [1, 3, 15]). В ампулу, снабженную двумя пальцеобразными отростками, к одному из которых присоединена запаянная в высоком вакууме емкость, содержащая 0,5 мл абс. метанола, помещали: в один отросток — раствор кетала (VI) и ангидрида (VII) — 150 и 15 мкмоль соответственно — в абс. бензоле; в другой — 1,5 или 30 мкмоль перхлората трифенилкарбония [16] в нитрометане. Кроме того, в ампулу помещали крупные стеклянные бусины. Ампулу присоединяли к вакуумной системе, содержимое замораживали жидким азотом, лиофилизовали и высушивали. В ампулу перегоняли 0,3 мл CH_2Cl_2 , дважды перегнанного в вакууме над CaH_2 , ампулу замораживали, отпаивали от системы, нагревали до комнатной температуры и содержимое перемешивали. По истечении заданного времени тонкую стеклянную перегородку, отделяющую ампулу от емкости

с метанолом, разбивали с помощью бусин и содержимое перемешивали. При этом происходило мгновенное обесцвечивание реакционной смеси, имевшей характерный ярко-желтый цвет, присущий ионам трифенилкарбония. Через 1 ч или 15 мин (при соотношении кеталь (VI) — катализатор 100 : 1 или 5 : 1 соответственно) ампулу вскрывали, прибавляли 0,1 мл пиридина и смесь разбавляли CHCl_3 до 10 мл. От полученных смесей отбирали аликвоты по 0,5 мл для ГЖХ. Продолжительности реакций указаны на рис. 1 и 2.

Анализ смесей с помощью ГЖХ (рис. 1). К аликвоте прибавляли 10 мкмоль тетраацетата β -метил-D-глюкопиранозида (XVII) (внутренний стандарт) и анализировали ГЖХ (170° , $4^\circ/\text{мин}$). Анализируемые вещества имели следующие времена удерживания (мин): (VII) — 1,1, (XVII) — 2,4, (VIII) — 3,8, (III) — 4,6. Площади пиков указанных веществ в контрольной смеси эквимольных количеств относились как 0,77 : 1,00 : 2,98 : 2,43.

Анализ смесей с помощью ВХ (рис. 2). Остальную часть полученных выше смесей упаривали досуха, остаток растворяли в 2 мл абс. метанола, прибавляли 0,2 мл 1 н. метилата натрия и оставляли на 12 ч. Разбавляли 10 мл воды и экстрагировали CHCl_3 (5×5 мл). Водный раствор деминерализовали КУ-2 (в пиридиниевой форме) и амберлитом IRA-410 (HCO_3^-), упаривали и хроматографировали на бумаге Фильтрак FN-11, предварительно размеченной на квадраты 15×15 мм, в системе *n*-бутанол — пиридин — вода (6 : 4 : 3). Хроматограмму разрезали на квадраты и радиоактивность последних определяли в сцинтилляторе В аналогично описанному ранее (см., например, [11]). Зоны хроматограмм с $R_{\text{ГЛС}}$ 0—0,2 принимают за «полисахарид», от 0,2 до 0,8 — за «олигосахарид»; левоглюкозан имеет $R_{\text{ГЛС}}$ 1,4. Вычисляли скорости счета в соответствующих зонах хроматограмм, отнесенные к суммарной скорости счета на данной хроматограмме (порядка $4 \cdot 10^4$ имп/мин).

Анализ смеси с помощью гель-хроматографии. Половину продуктов реакции, полученных дезацетилированием реакционной смеси (150 мкмоль (VI), 30 мкмоль катализатора, 20 ч), хроматографировали на колонке с биогелем Р-10 (50—100 меш, h 62 см, S 3,2 см², V_0 53 мл, элюция водой). Собирали фракцию, включающую первые 96 мл, и повторно хроматографировали в тех же условиях, собирая фракцию, вышедшую с 84 мл. Полученный таким образом полисахарид (3 мг — определение по методу [12], выход 25%) вносили в сцинтиллятор А и определяли скорость счета (в 5 мл сцинтиллятора внесено 4,5 мкмоль вещества в 0,1 мл воды). Счет — $2,2 \cdot 10^3$ имп/мин. В тех же условиях (одинаковая эффективность счета показана с помощью ^{14}C тодуола в качестве внутреннего эталона) исходный меченый ангидрид (VII) (5 мкмоль) показывает скорость счета $3,8 \cdot 10^5$ имп/мин. Таким образом, полисахарид и ангидрид имеют удельные активности $4,9 \cdot 10^2$ и $7,6 \cdot 10^4$ имп/мин/мкмоль, что соответствует включению остатков глюкозы из тетраацетата левоглюкозана (VII) в полисахарид, равному 0,65%.

Глюкоан С-5. С помощью техники, описанной выше в аналитической серии, поликонденсировали 3 ммоль кеталья (VI) в 6 мл CH_2Cl_2 в присутствии 0,6 ммоль перхлората трифенилкарбония (20° , 15 ч). Вводили (как указано выше) 1 мл метанола, а через 15 мин ампулу вскрывали, прибавляли 0,5 мл пиридина и раствор разбавляли до 100 мл CHCl_3 . Аликвоту (0,5 мл) анализировали ГЖХ, как описано выше; в смеси обнаружены продукты (ммоль): (VII) — 0,04, (VIII) — 0,13, (III) — 2,04. Основную часть продуктов дезацетилировали (см. аналитическую серию), восстанавливали NaBH_4 и фракционировали гель-хроматографией на биогеле Р-4 (100—200 меш, h 59 см, S 7,5 см², V_0 130 мл, элюция водой). Полимерную фракцию, вышедшую с первыми 130 мл, объединили и рехроматографировали на той же колонке, собирая первые 75 мл. Таким путем получали 114 мг (23%) полисахарида, имеющего $[\alpha]_D -23^\circ$ (с 2,0; вода). Полисахарид (80 мг) хроматографировали на колонке с биогелем Р-10 (о колонке см. в преды-

дущем опыте). Собирали первые 60 мл элюата и упаривали. Получали глюкозу С-5, выход 46 мг (13,5%), $[\alpha]_D -24^\circ$ (с 2,0; вода).

Кислотный гидролиз глюкозы С-5. Готовили водный 0,1%-ный (по навеске) раствор глюкозы С-5 (А). Раствор А (0,2 мл) смешивали с 0,2 мл 3 М H_2SO_4 , нагревали 4 ч в запаянной ампуле при 100° , нейтрализовали 0,8 мл 1,5 М $NaOH$ (В). Готовили 0,1%-ный раствор D-глюкозы (В); 0,2 мл раствора В нагревали с серной кислотой в условиях, описанных для раствора А; получали раствор Г. В равных аликвотах растворов А — Г определяли содержание глюкозы по фенол-серной реакции [12]: 27,0; 27,5; 27,5 и 30,0 мкг соответственно. Те же растворы анализировали на глюкозу с помощью глюкозооксидазы: 0; 32,5; 31,5 и 32,0 мкг.

Метилирование глюкозы С-5. Глюкозу С-5 (16 мг) метилировали по Хаккомори [13] (20 мг $NaNH$, 2 мл диметилсульфоксида, 0,5 мл иодистого метила). Смесь разбавляли 10 мл $CHCl_3$, промывали водным $Na_2S_2O_3$, водой (5×5 мл) и упаривали досуха. Половину полученного метилированного глюкозы С-5 метилировали повторно аналогичным образом. Два образца метилированного полисахарида обрабатывали далее параллельно: подвергали формолизу (92%-ная $HCOOH$, 1 мл, 100° , 2 ч), раствор упаривали, остаток гидролизовали в 1 мл H_2SO_4 (100° , 6 ч) и пейтрализовали амберлитом IRA-410 (HCO_3^-).

Продукты гидролиза восстанавливали боргидридом натрия и ацетилировали обычным образом. Полученные смеси ацетатов метилированных сорбитов анализировали как описано ниже.

Анализ продуктов метилирования ГЖХ (160° , $6^\circ/мин$). Стандартная эквимольная смесь заведомых ацетатов 2,3,4,6-тетра-О-метил-D-сорбита (XIII) и 2,3,4-три-О-метил-D-сорбита (XIV) дает пики с временами удерживания 2,1 и 3,1 мин соответственно с соотношением площадей 1,34 : 1. В полученных выше смесях идентифицированы ГЖХ прямым сравнением со свидетелями 2,3,4,6-тетра-О-метил-D-сорбит (XIII), 2,3,4-три-О-метил-D-сорбит (XIV), а также ацетат 3,4-ди-О-метил-D-сорбита (XV) с временем удерживания 3,9 мин (идентифицирован хромато-масс-спектрометрией, см. ниже). Соотношение количества ацетатов (XIII): (XIV): (XV) практически одинаково для продуктов однократного и двукратного метилирования и составляет 1,0 : 15,1 : 0,4. Хромато-масс-спектрометрический анализ смесей дает для указанных веществ масс-спектры, содержащие характеристические наборы пиков со следующими значениями m/e (ср. [17]): (XIII) — 205, 161, 145, 129, 117, 101, 87, 71, 45 и 43; (XIV) — 189, 161, 129, 117, 101, 99, 87 и 43; (XV) — 189, 129, 99, 87 и 43.

Проверка возможности деметилирования. Эквимольную смесь 2,3,4,6-тетра-О-метил-D-глюкозы и 2,3,4-три-О-метил-D-глюкозы подвергали формолизу, гидролизу, восстановлению и ацетилированию в условиях, описанных выше для глюкозы С-5. В полученной смеси ГЖХ обнаружены только производные (XIII) и (XIV), ацетаты ди-О-метил-D-сорбитов не обнаружены.

Реакция кетала (I) в условиях поликонденсации. В двух ампулах обрабатывали по 150 мкмоль кетала (I) перхлоратом трифенилкарбония (по 7,5 мкмоль) в 0,3 мл CH_2Cl_2 при 20° в течение 22 ч, как описано выше. К смесям прибавляли 0,3 мл смеси метанол — пиридин (4 : 1) (а) или 0,3 мл метанола (б). Ампулы вскрывали и добавляли по 0,2 мл пиридина. В обеих смесях ГЖХ (170°) обнаружен нитрил (XVI) — время удерживания 7,0 мин (идентифицирован прямым сравнением с заведомым свидетелем) — и вещество с временем удерживания 9,7 мин. Смесь опыта б подвергали всему циклу операций, как при выделении и метилировании полисахарида (за исключением гель-хроматографии). В полученной смеси продуктов с помощью ГЖХ (155°) наряду с другими веществами неизвестной природы обнаружены и идентифицированы сравнением с заведомыми свидетелями производное (XIII) и ацетат 3,4,6-три-О-метил-D-сорбита в примерном соотношении 1 : 1.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bochkov A. F., Chernetsky V. N., Kochetkov N. K. (1975) *Carbohydr. Res.*, **43**, 35—41.
2. Bochkov A. F., Obruchnikov I. V., Kalinevich V. M., Kochetkov N. K. (1975) *Tetrahedron Lett.*, 3403—3407.
3. Bochkov A. F., Kochetkov N. K. (1975) *Carbohydr. Res.*, **39**, 355—357.
4. Coxon B., Fletcher H. G., Jr. (1963) *J. Amer. Chem. Soc.*, **85**, 2637—2642.
5. Helferich B., Bettin K. L. (1971) *Chem. Ber.*, **104**, 1701—1702.
6. Helferich B., Bettin K. L. (1971) *Chem. Ber.*, **104**, 3356.
7. Coxon B., Hall L. D. (1964) *Tetrahedron*, **20**, 1685—1694.
8. Zachoval J., Schuerch C. (1969) *J. Amer. Chem. Soc.*, **91**, 1165—1169.
9. Haq S., Whelan M. J. (1956) *J. Chem. Soc.*, 4543—4549.
10. Ferrier R. J. (1970) *Fortscher. Chem. Forsch.*, **14**, 389—429.
11. Wulff G., Roehle G. (1974) *Angew. Chem. Int. Ed.*, **13**, 157—170.
12. Dubois M., Gilles K. A., Hamilton J. K., Rebers R. A., Smith F. (1956) *Analyt. Chem.*, **28**, 350—356.
13. Hakomori S. (1964) *J. Biochem.*, **55**, 205—207.
14. Takiura K., Honda S., Endo T., Kakehi K. (1972) *Chem. Pharm. Bull.*, **20**, 438—442.
15. Бочков А. Ф., Обручников И. В., Кочетков Н. К. (1974) *Ж. общ. химии*, **45**, 1197—1203.
16. Dauben H. J., Honnen L. R., Harmon K. M. (1960) *J. Org. Chem.*, **25**, 1442—1445.
17. Björndal H., Lindberg B., Svensson S. (1967) *Carbohydr. Res.*, **5**, 433—440.

Поступила в редакцию
23.II.1976

SYNTHESIS OF POLYSACCHARIDES. VIII. THE SYNTHESIS OF β -1 \rightarrow 6-*D*-GLUCAN BY THE NOVEL POLYCONDENSATION REACTION

BOCHKOV A. F., OBRUCHNIKOV I. V., KALINEVICH V. M.,
KOCHETKOV N. K.

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

Polysaccharide β -1 \rightarrow 6-*D*-glucan has been obtained as a result of triphenylcarbonium perchlorate mediated polycondensation of pyruvonnitrile cyclic ketal of *D*-glucose containing trityl grouping at C-6. The reaction is accompanied by the formation of side product, levoglucosan triacetate, which can co-polymerize with the starting monomer. The polymerization kinetics have been studied using ^{14}C levoglucosan triacetate. Under the optimal conditions the levoglucosan incorporation into polymeric chain has been shown not to exceed 0.65%.