



УДК 547.458.41.057

СИНТЕЗ ТЕРМИНАЛЬНОГО ДИСАХАРИДА АНТИГЕНА ФОРССМАНА И НЕКОТОРЫХ ЕГО АНАЛОГОВ В ВИДЕ СПЕЙСЕРИРОВАННЫХ ГЛИКОЗИДОВ И СВОБОДНЫХ ДИСАХАРИДОВ

© 1997 г. Т. В. Овчинникова, А. Г. Тер-Григорян, Г. В. Пазынина, Н. В. Бовин[#]

Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,
117871, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

Поступила в редакцию 29.03.96 г.

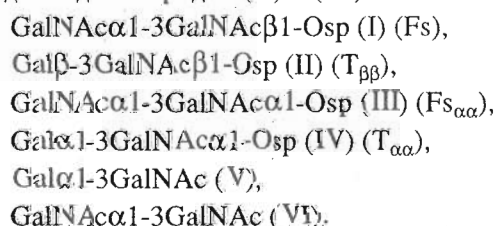
Синтезированы спейсерированные терминальный дисахарид антигена Форссмана GalNAc α 1-3GalNAc β 1-Osp, его аналог GalNAc α 1-3GalNAc α 1-Osp, дисахариды Gal β 1-3GalNAc β 1-Osp и Gal α 1-3GalNAc α 1-Osp (sp = (CH₂)₃NHCOCF₃). Спейсерированные дисахариды получены исходя из (3-трифторацетамидопропил)-2-ацетида-4,6-О-бензилиден-2-дезоксид- β -D-галактопиранозиды и его α - и β -аналогов с 2-азидогруппой вместо 2-ацетида. При этом азидные гликозиллацепторы приводили к лучшим выходам дисахаридов. Для получения азидных гликозиллацепторов использовано стереонаправленное гликозилирование 3-трифторацетамидопропанола аномерной смесью 1-О-ацетатов 2-азидо-3,4,6-три-О-ацетил-2-дезоксид- D -галактопиранозы в присутствии кислот Льюиса. Исходя из бензил-2-ацетида-4,6-О-бензилиден-2-дезоксид- α -D-галактопиранозиды синтезированы свободные дисахариды Gal α 1-3GalNAc и GalNAc α 1-3GalNAc.

Ключевые слова: опухлеассоциированные антигены, антиген Форссмана, олигосахаридный синтез.

Дисахаридные последовательности Gal1-3GalNAc и GalNAc1-3GalNAc – характерные фрагменты углеводных цепей многих мембранных и секретруемых гликоконъюгатов в норме и при различных патологиях, в том числе и при онкотрансформации. Дисахаридный фрагмент Gal β 1-3GalNAc α является кором О-цепей гликопротеинов, в том числе группоспецифических АВН-антигенов типа 3, а также иммунодоминантной группой антигена Томсена-Фриденрейха (Т-антигена). T $\beta\beta$ -дисахарид Gal β 1-3GalNAc β является фрагментом, характерным для ганглиозидов, например GM₁, а также кором для АВН-антигенов типа 4. T $\alpha\alpha$ -дисахаридная последовательность Gal α 1-3GalNAc α найдена в О-цепях гликопротеина клеточной линии PA1 тератокарциномы человека [1]. Дисахарид GalNAc α 1-3GalNAc β (Fs) – терминальное звено антигена Форссмана [2] GalNAc α 1-3GalNAc β 1-3Gal α 1-4Gal β 1-4Glc β 1-1Cer. Его α , α -аналог GalNAc α 1-3GalNAc α (Fs $\alpha\alpha$) найден в составе кора О-цепей гликопротеина аденокарциномы человека GalNAc α 1-3(Neu5Ac α 2-6)GalNAc α [3].

Для изучения и характеристики углеводных опухлеассоциированных антигенов и углеводсвязывающих белков, в том числе моноклональных антител и лектинов, а также для поиска новых опухолевых маркеров успешно используются синте-

тические олигосахариды и полученные на их основе неогликоконъюгаты. Целью данной работы был синтез дисахаридов в виде 3-(трифторацетида)пропилгликозидов (I)–(IV), а также свободных дисахаридов (V) и (VI):



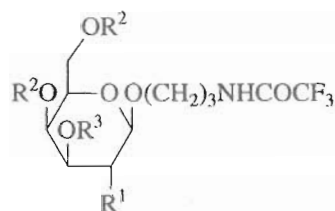
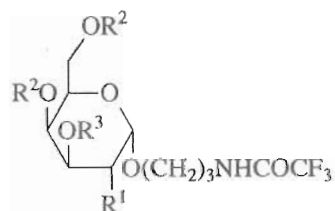
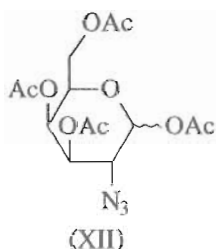
Синтезы T $\alpha\alpha$ - и Fs-дисахаридов в виде метилгликозидов и синтез различных T $\beta\beta$ -гликозидов опубликованы в ряде работ, например [4–7]. T $\alpha\alpha$ - и T $\beta\beta$ -дисахариды в виде 3-трифторацетидапропилгликозидов – соединения (II) и (IV) также были ранее синтезированы в нашей лаборатории [8, 9]. Полученные на их основе неогликоконъюгаты [10] были использованы для характеристики эпигликоспецифичности моноклональных антител и лектинов [11–13]. В настоящей работе мы предлагаем другие варианты их синтеза.

СИНТЕЗ СПЕЙСЕРИРОВАННЫХ ДИСАХАРИДОВ

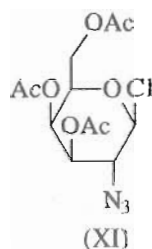
В качестве гликозиллацепторов были использованы 4,6-бензилиденные производные (VII) и (VIII) 2-ацетида- и 2-азидо-2-дезоксигалактозы –

Сокращения: Bd – бензилиден, Bn – бензил, Cer – церамид, sp = -(CH₂)₃NHCOCF₃.

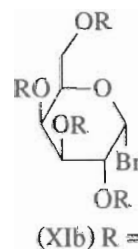
[#] Автор для переписки.

(VII) $R^1 = \text{NHAc}$, $R^2R^3 = \text{Bd}$, $R^3 = \text{H}$ [(VIIa) – α -аномер](VIII) $R^1 = \text{N}_3$, $R^2R^3 = \text{Bd}$, $R^3 = \text{H}$ (X) $R^1 = \text{NHAc}$, $R^2 = R^3 = \text{Ac}$ (Xa) $R^1 = \text{NHAc}$, $R^2 = R^3 = \text{H}$ (XIIb) $R^1 = \text{N}_3$, $R^2 = R^3 = \text{Ac}$ (VIIa) $R^1 = \text{NHAc}$, $R^2R^3 = \text{Bd}$, $R^3 = \text{H}$ (IX) $R^1 = \text{N}_3$, $R^2R^3 = \text{Bd}$, $R^3 = \text{H}$ (XIIa) $R^1 = \text{N}_3$, $R^2 = R^3 = \text{Ac}$ [(XIIb) – β -аномер]

(XII)



(XI)

(XIb) $R = \text{Ac}$ (XIc) $R = \text{Bn}$

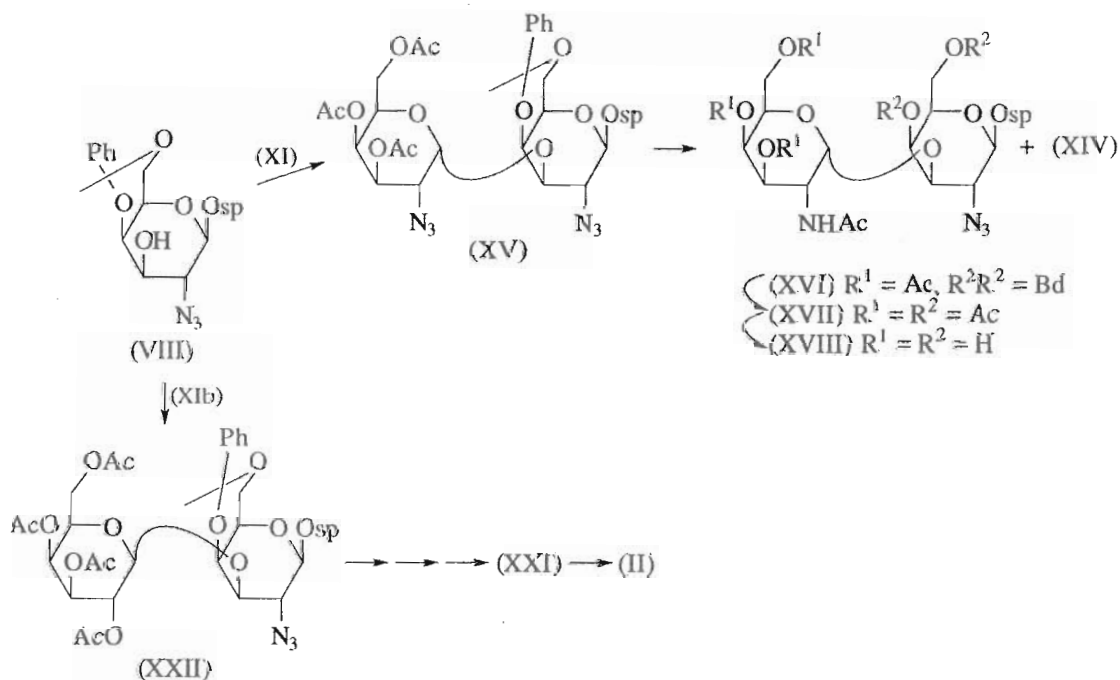
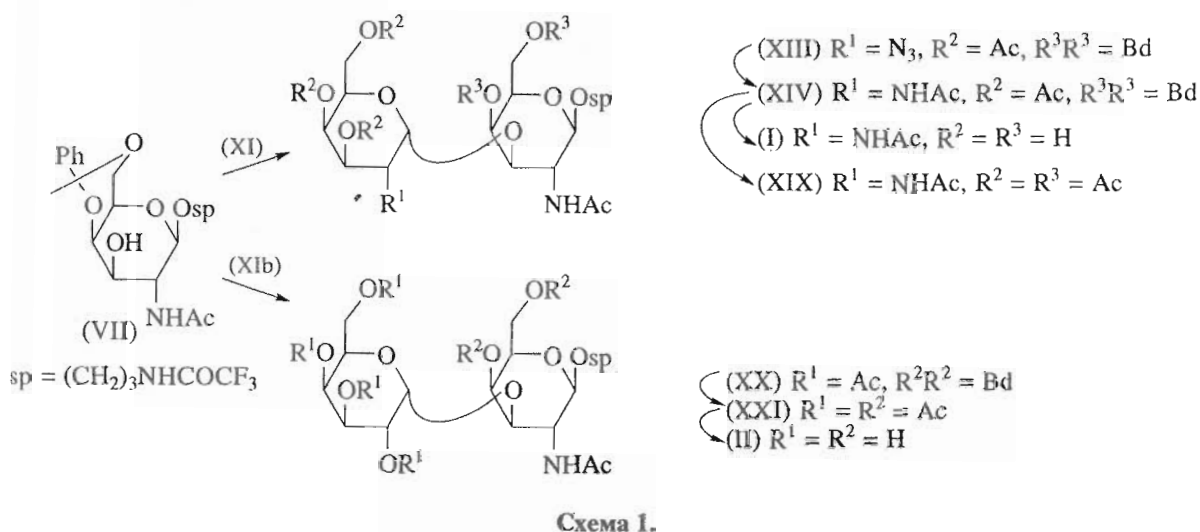
для синтеза β -галактозаминидов (I) и (II), а также 4,6-бензилиденное производное 2-азидо-2-дезоксигалактозы (IX) – для синтеза α -галактозаминидов (III) и (IV).

Гликозилакцептор (VII) был получен ранее из ацетилованного β -гликозида (X) [14] дез-О-ацетилованием и последующим бензилиденированием α,α -диметокситолуолом (выход 84%). Аналогичное 2-азидопроизводное (VIII) первоначально было получено нами как побочный продукт синтеза α -галактозида (IX) [9] при гликозилировании 3-трифторацетамидопропанола 2-азидо-3,4,6-три-О-ацетил-2-дезоксид- β -D-галактопиранозилхлоридом (XI) в условиях реакции Гельфериха ($\text{Hg}(\text{CN})_2/\text{HgBr}_2$, бензол/нитрометан) с последующим дез-О-ацетилованием и бензилиденированием. В данной работе для получения соединений (VIII) и (IX) мы использовали другой подход – катализируемое кислотами Льюиса гликозилирование 3-трифторацетамидопропанола аномерной смесью 2-азидо-1-О-ацетатов (XII) [15] с последующим дез-О-ацетилованием и бензилиденированием. Мы нашли условия, позволяющие получить преимущественно α - или β -гликозид. Так, катализ SnCl_4 приводит к образованию β -аномера (XIIb) с выходом 67% (77% с учетом непрореагировавшего 1-О-ацетата), а реакция в присутствии $\text{BF}_3\text{Et}_2\text{O}$ дает α -аномер (XIIa) с выходом 54% (73% с учетом непрореагировавшего 1-О-ацетата), при этом, по данным ЯМР, аномерная чистота получаемых гликозидов составляет 90–95%.

Гликозид (I) дисахарида Форссмана получали, используя в качестве гликозилдатора для введения α -GalNAc-звена ацетилованный азидохлорид (XI) (схема 1). Гликозилирование 2-ацетамидного акцептора (VII) в присутствии карбоната и перхлората серебра в дихлорметане с последующим превращением азидной группы в ацетамидную дало дисахарид (XIV) (53%), деблокированием которого был получен Fs-дисахарид (I). Для синтеза $T_{\beta\beta}$ -дисахарида (II) соединение (VII) гликозилировали ацетобромгалактозой (XIb) в присутствии трифлата серебра в дихлорметане при комнатной температуре (выход 50%). После дебензилиденирования и ацетилования 4,6-диола получен перацетат (XXI), дез-О-ацетилование которого дало гликозид (II) $T_{\beta\beta}$ -дисахарида (полученный ранее в работе [9] из свободного дисахарида Gal β 1-3GalNAc).

Использование 2-азидного гликозилакцептора (VIII) вместо ацетамидного (VII) дало лучшие результаты (схема 2): выходы на стадии гликозилирования (в тех же условиях) $T_{\beta\beta}$ - и Fs-гликозидов (XXII) и (XV) составили 80 и 70% соответственно, а при гликозилировании в присутствии карбоната и трифлата серебра соединение (XV) было получено с выходом 77%.

Гликозид (III) Fs $_{\alpha\alpha}$ -дисахарида получали, вводя α -GalNAc-звено так же, как и в случае Fs-дисахарида, причем использование азидного гликозил-акцептора (IX) дало 95%-ный выход дисахарида (XXIII) на стадии гликозилирования (схема 3).



Синтез гликозида (IV) $\text{T}_{\alpha\alpha}$ -дисахариды исходя из 2-ацетида производного (VIIa) описан нами ранее в работе [8]: α -галактозилрование акцептора (VIIa) проводили тетра-О-бензил- α -D-галактопиранозилбромидом (XIc) в бензоле в присутствии цианида ртути, однако реакция протекала неспецифично и с низким выходом (23% целевого дисахариды). Использование азидного гликозилакцептора (IX) (схема 3) и в этом случае дало лучшие результаты: суммарный выход α,α - (XXV) и β,α -дисахаридов (XXVb) на стадии гликозилирования (в тех же условиях) составил 90%, соотношение α/β -аномеров – 6 : 1. Успешное использование

производных 2-азидо-2-дезоксигалактозы для синтеза $\text{T}_{\alpha\alpha}$ - и Fs-дисахаридов описано также в работах [4, 5].

Превращение азидной группы в ацетида и удаление защитных групп во всех описанных синтезах проводили одними и теми же стандартными методами с удовлетворительными выходами (см. "Экспериментальную часть"). Однако здесь следует отметить неожиданно трудное восстановление азидных групп в Fs-гликозида. Так, гидрогенолиз бис-азиды (XV) с последующим N-ацелированием дал бис-ацетида производное (XIV) с выходом 50%. При этом после удаления защитных

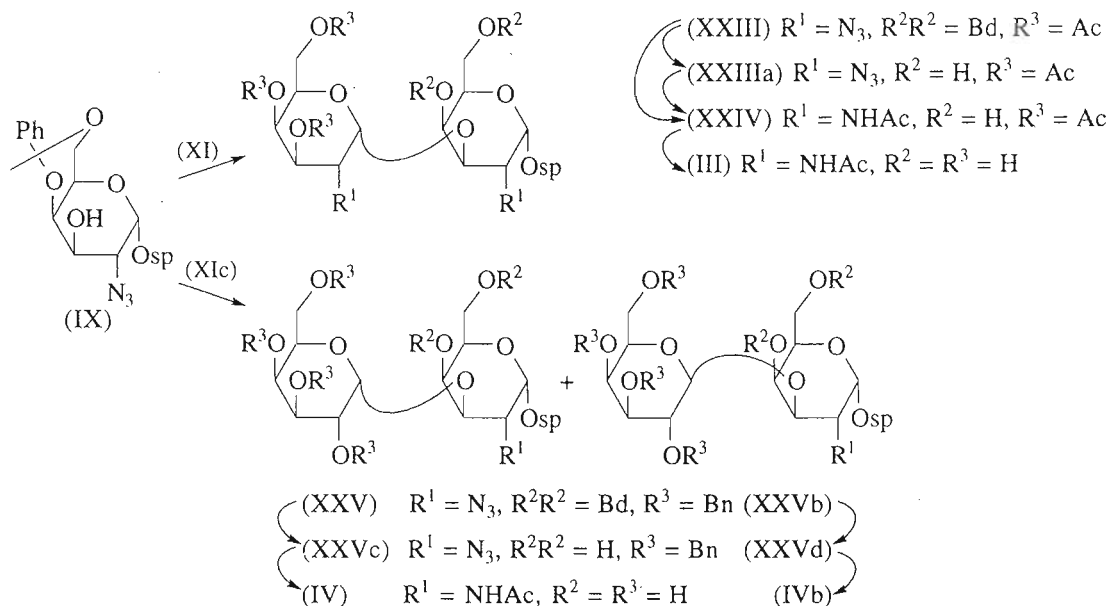


Схема 3.

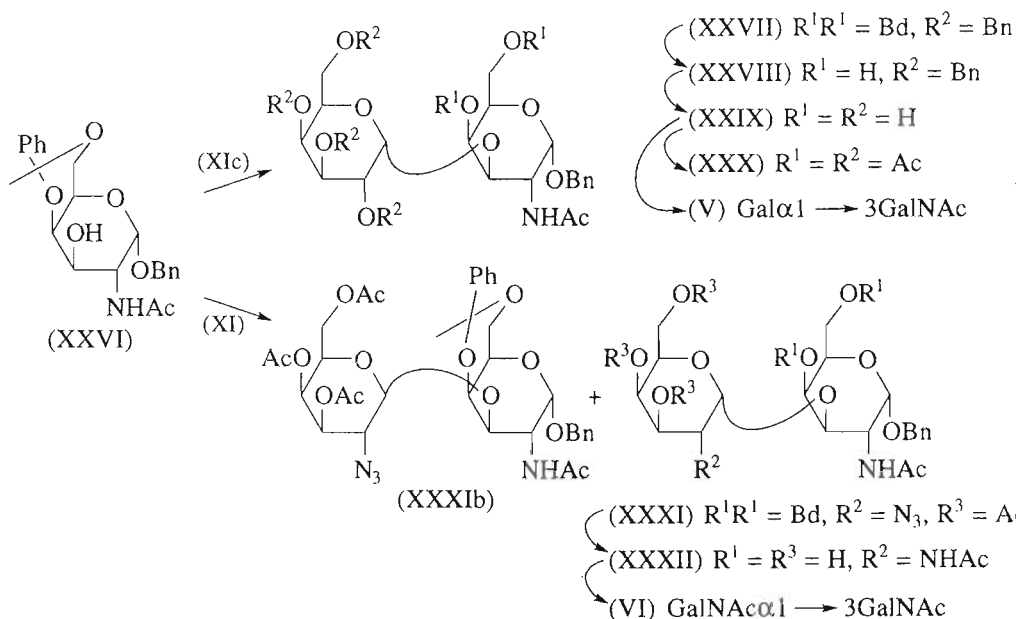


Схема 4.

групп в качестве побочного продукта было выделено соединение (XVIII), содержащее NHAc-группу в α - и азидную группу в β -Gal-звене (схема 2). Поскольку ничего подобного не наблюдалось для α, α -аналога дисахарида Форссмана, мы предполагаем, что низкие выходы этой реакции связаны с пониженной реакционной способностью 2-азидной группы в β -Gal-звене. Интересно, что в работе [16] также была замечена необычно низкая реакционная способность 2-ацетамидной группы в (3-трифторацетиламинопропил)-2-ацетиламино-3,4,6-три-О-ацетил-2-деокси- β -D-галактопиранозиде (X) по

сравнению с аналогичным α -галактозаминидом в реакции тионирования.

СИНТЕЗ СВОБОДНЫХ ДИСАХАРИДОВ

Дисахариды (V) и (VI) синтезированы из одного предшественника – производного α -бензил-N-ацетилгалактозаминида (XXVI) [17] со свободной гидроксильной группой при C-3 (схема 4). Дисахарид (V) получали, вводя α -галактозное звено так же, как и в случае получения спейсерированного T $_{\alpha\alpha}$ -гликозида (XXV): в качестве гликозилднора

был использован бромид (XIc), реакцию проводили в бензоле в присутствии цианида ртути. В отличие от аналогичного α -(3-трифторацетамидопронил)гликозида (VIIa) [8] (см. выше) α -бензил-N-ацетилгалактозаминид (XXVI) реагировал стереоспецифично и с выходом 85% дал α , α -гликозид (XXVII). Далее соединение (XXVII) деблокировали по обычной схеме. Дебензилиденирование проводили в присутствии перхлората пиридина [18], поскольку обработка уксусной кислотой давала неудовлетворительные результаты. Трудности встретились и при удалении бензильных защитных групп: в то время как деблокирование галактозного звена протекало гладко (гидрогенолиз над 10% Pd/C, 1 сут, комнатная температура, выход α -бензилгликозида (XXIX) – 80%), удаление бензильной группы из бензилгликозида (XXIX) шло с большим трудом, даже после 14 сут гидрогенолиза при повышенной температуре в реакционной смеси оставалось заметное количество (25%) исходного вещества. Попытки дебензилирования соединения (XXIX) ацетоллизом не привели к успеху: в стандартных условиях (обработка раствором 0.5% H₂SO₄ в Ac₂O, 0–20°C) ацетоллиз шел медленно и дал низкий выход целевого дисахарида.

Дисахарид (VI) синтезирован исходя из соединения (XXVI) по схеме, описанной выше для спейсерированных Fs- и Fs_{αα}-дисахаридов (III) и (IV): выделенный после гликозилирования азидохлоридом (XI) (карбонат серебра/перхлорат серебра, дихлорметан) основной продукт реакции α -гликозид (XXXI) (выход 56%) содержал в качестве примеси β -изомер (XXXIb) (соотношение α/β составило 12 : 1). Деблокирование и превращение азидной группы в ацетамидную протекало без осложнений, однако, как и в случае дисахарида (V), для получения свободного дисахарида (VI) из α -бензилгликозида (XXXI) полнота дебензилирования достигалась длительным гидрогенолизом при повышенной температуре.

Структура полученных соединений установлена по данным ¹H- и ¹³C-ЯМР-, ИК- и FAB-масс-спектрометрии и подтверждена для кристаллических веществ данными элементного анализа.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Общие методы

Температуры плавления определяли на приборе Voetius (ГДР). Оптическое вращение измеряли на поляриметре JASCO DIP-360 (Япония) при 20–25°C. Спектры ЯМР снимали на приборах Bruker WM-500 (рабочая частота 500 МГц), WM-250 (с рабочей частотой 250 МГц по ¹H и 62.89 МГц по ¹³C), Varian SC-300 (300 МГц) при 303–305 К, значения химических сдвигов (δ , м. д.) приведены относительно тетраметилсилана, константы спин-спинового взаимодействия измерены в герцах. Масс-

спектры сняты на приборе Kratos MS 50 TC (FAB, энергия атомов ксенона 8 кэВ, стандартная матрица – глицерин).

ТСХ проводили на пластинках Kieselgel 60 (Merck), вещества обнаруживали 5% водным раствором серной или фосфорной кислоты при 150°C (углеводы), нингидрином (аминосоединения). Для свободных олигосахаридов использовали следующие системы растворителей: EtOH–BuOH–Py–H₂O–AcOH, 100 : 10 : 10 : 10 : 3 (A), CHCl₃–EtOH–H₂O, 3 : 8 : 2 (B). Для колоночной хроматографии использовали силикагель 40/100 мкм (Chemapol, ЧСФР). ВЭЖХ проводили на приборе фирмы LKB 2150 с УФ-детектором 2140 (детекция при 200–254 нм). Для аналитических целей использовали колонку Separon SGX C18, 7 мкм (4.6 × 250 мм) (Tessek); для препаративной хроматографии – колонки Partisil 10 ODS-3 (10 × 250 мм), Partisil 10 (10 × 250 мм) (Whatman), Силасорб C18, 5 мкм (24 × 250 мм) (“Хроматосервис”, Россия) и Zorbax Sil (9.4 × 250 мм) (Du Pont).

Растворители для гликозидного синтеза абсолютировали и хранили над молекулярными ситами; твердые реагенты высушивали 2 ч в вакууме (0.1 мм рт. ст.) при 20–40°C. Растворители упаривали в вакууме при 30–40°C.

Перацетилирование проводили смесью уксусного ангидрида и пиридина (1 : 2) при 20°C в течение 12–24 ч.

Дез-О-ацетилирование проводили по Земплону в абс. метаноле, добавляя к раствору ацилпроизводного каталитическое количество 1 М раствора метилата натрия в метаноле; по окончании реакции ионы Na⁺ удаляли катионитом IR-120 (H⁺) и раствор упаривали.

Дебензилиденирование осуществляли обработкой 60% уксусной кислотой (или раствором 60% уксусная кислота–ацетонитрил, 2 : 1, для труднорастворимых веществ с большим количеством бензильных групп) при 70–80°C в течение 2–6 ч, после чего раствор упаривали досуха.

Для превращения азидной группы в ацетамидную проводили гидрогенолиз соединений над 10% Pd/C (в равном весовом отношении) в смеси MeOH–AcOH, 20 : 1, в течение 16–48 ч, при этом происходит одновременное удаление бензильных защитных групп в бензилированных соединениях.

(3-Трифторацетамидопронил)-2-ацетамидо-4,6-О-бензилиден-2-дезоксид- β -D-галактопиранозид (VII). 0.35 г (0.7 ммоль) ацетата (X) [14] дезацетилювали по Земплону. Аналитический образец (3-трифторацетамидопронил)-2-ацетамидо-2-дезоксид- β -D-галактопиранозид (XIa) получили после ВЭЖХ (элюция 5–40% метанолом в воде), т. пл. 195°C (этанол–этилацетат), $[\alpha]_D^{20}$ –19° (с 1, метанол). Данные ¹H- и ¹³C-ЯМР приведены в табл. 1 и 5 соответственно. Найдено, %: С 41.84; Н 5.70;

Таблица 1. Данные спектров ^1H -ЯМР моносахаридов (VII), (VIII), (IX), (Xa)*.

Соединение (растворитель)	H-1 ($J_{1,2}$)	H-2 ($J_{2,3}$)	H-3 ($J_{3,4}$)	H-4 ($J_{4,5}$)	H-5 ($J_{5,6a}$)	H-6a ($J_{5,6b}$)	H-6b ($J_{6a,6b}$)	NHAc ($J_{NH,2}$)	Ac	PhCH	OH ($J_{3,OH}$)	CCH ₂	CH ₂ N	CH ₂ O
(VII)	4.38д	3.80м	3.65м	4.10д	-	-	-	7.60д	1.83с	5.61с	4.96д	1.72м	-	-
(DMSO- <i>d</i> ₆)	(9.0)	(3.5)	(3.5)	(<1.0)							(6.0)			
(VIII)	4.29д	**	**	4.18д	4.32м	4.08дд	-			5.58с	2.75д	1.94м	3.54м	3.71м
(CDCl ₃)	(7.5)	(2.5)	(2.5)	(<1.0)	(1.7)	(1.7)	(13)				(9.0)			4.08м
(IX)	4.99д	3.77дд	4.11ддд	4.31д	3.74м	4.29дд	4.05дд			5.60с	2.52д	1.90м	3.42м	3.54м
(CDCl ₃)	(3.0)	(10.0)	(3.5)	(<1.0)	(1.5)	(1.5)	(13)				(9.0)		3.68м	3.95м
(Xa)	4.40р	3.87дд	4.69дд	3.91д	3.64м	3.79м	3.73м		2.02с			1.82м	3.35м	3.62м
(D ₂ O)	(8.0)	(11.0)	(3.0)	(<1.0)	(7.5)	(4.5)	(11)							3.92м

* Съемка спектров производилась на приборах с рабочей частотой 250 МГц (соединения (VIII), (IX), (Xa)) и 500 МГц (соединение (VII)).

** H-2, H-3: 3.62 м.

Таблица 2. Данные спектров ¹H-ЯМР защищенных биоэзидов (XIV), (XV), (XVII), (XIX), (XXI), (XXIII)-(XXV)*

Соединение, звено**	H-1 (J _{1,2})	H-2 (J _{2,3})	H-3 (J _{3,4})	H-4 (J _{4,5})	H-5 (J _{5,6a})	H-6a (J _{5,6b})	H-6b (J _{6a,6b})	NHAc (J _{NH,2})	PhCH	NHCOCF ₃	Ac
(XIV) GalNAcα1-	5.10д (3.5)	4.59ддд (11.5)	5.06дд (3.0)	5.38д (<1.0)	4.21м	-	-	5.87д (9.5)	-	-	1.37, 1.96, 2.03, 2.10 2.15
-3GalNAcβ1-Osp	4.85д (8.5)	4.01м	4.19дд (3.5)	4.30д (<1.0)	3.52м	-	-	6.09д (8)	5.51с	7.21м	-
(XV) Gal(N ₃)α1-	5.24д (3.5)	3.67дд (11.0)	5.45дд (3.0)	5.54дд (1.0)	4.52м (6.5)	4.16дд (6.5)	4.07дд (11.0)	-	-	-	2.05, 2.07, 2.16
-3Gal(N ₃)β1-Osp	4.37д (7.7)	3.89дд (10.0)	3.65дд (3.5)	4.32д (<1.0)	3.45м (1.5)	4.37дд (1.5)	4.13дд (12.0)	-	5.61с	7.07м	-
(XIX) GalNAcα1-	4.97д (3.5)	4.59ддд (12.0)	4.94дд (3.5)	5.35д (<1.0)	-	-	-	6.64д (10.5)	-	-	1.98, 2.00, 2.02, 2.05, 2.10, 2.17 2.22
-3GalNAcβ1-Osp	4.90д (8.5)	3.51ддд (10.5)	4.38дд (3.5)	5.35д (<1.0)	3.90г (7.0)	-	-	6.60д (8)	-	-	-
(XVII) GalNAcα1-	5.03д (3.5)	4.67ддд (12.0)	5.16дд (3.5)	5.43дд (1.2)	4.49м (6.5)	4.17дд (6.5)	4.07дд (11.5)	5.62д (10)	-	-	2.00, 2.01, 2.06, 2.17 2.21
-3Gal(N ₃)β1-Osp	4.38г (8)	***	***	5.31с (<1.0)	3.59м	4.12м	4.12м	-	-	6.99м	-
(XXI) Galβ1-	5.06д (8)	5.16дд (10.5)	4.99дд (3.5)	5.38д	-	-	-	5.86д (7.5)	-	-	1.99, 2.09, 2.11, 2.14
-3GalNAcβ1-Osp	4.64д (7.5)	3.70ддд (10.5)	4.50дд (2.5)	5.44д (<1.0)	-	-	-	-	-	7.36м	-
(XXIII) Gal(N ₃)α1-	5.33д (3.5)	3.64дд (11.0)	5.50дд (3.0)	5.56дд (1.2)	4.37м (6.5)	4.16дд (6.0)	4.09дд (10.5)	-	-	-	2.04, 2.05, 2.16
-3Gal(N ₃)α1-Osp	5.05д (3.5)	-	3.22дд (3.5)	4.47д (<1.0)	3.72м (1.5)	4.32дд (1.5)	4.14дд (12.5)	-	5.62с	-	-
(XXIV) GalNAcα1-	5.14д (3.7)	4.51дд (11.5)	5.10дд (3.0)	5.42дд (1.0)	4.31м (7.0)	4.22дд (6.5)	4.14дд (10.5)	-	-	-	1.97, 1.99, 2.05, 2.11, 2.17
-3GalNAcα1-Osp	4.82д (3.5)	4.59дд (11.0)	3.92дд (3.0)	4.09д (<1.0)	-	-	-	-	-	-	-
(XXV) Galα1-	5.32д (2.5)	4.13м	4.10м	3.96с	-	3.60дд	3.48дд (9.5)	-	-	-	-
-3Gal(N ₃)α1-Osp	4.98д (7.7)	4.21м	4.18м	4.06с	3.56м (7.0)	3.98м	4.25м	-	5.47с	-	-

* Съемка спектров производилась в CDCl₃ (соединения (XIV), (XV), (XVII), (XIX), (XXI), (XXIII), (XXV)) и CD₃OD (XXIV) на приборах с рабочей частотой 250 МГц (соединения (XV), (XVII), (XIX), (XXIII), (XXIV), (XXV)), 300 (XXI) и 500 МГц (XIV). Сигналы 3-трифторацетамидопротипильной группы ОСН₂СН₂СН₂Н: 3.3-3.6; 1.8-2.0; 3.5-4.1.

** Защиты не указаны - см. схемы 1-4.

*** H-2, H-3: 3.50-3.65.

Таблица 3. Данные спектров ¹H-ЯМР защищенных бензилгликозидов (XXVII), (XXX), (XXXI), (XXXIb), (XXXII)*

Соединение, звено (растворитель)**	H-1 (J _{1,2})	H-2 (J _{2,3})	H-3 (J _{3,4})	H-4 (J _{4,5})	H-5	NHAc (J _{NH,2})	PhCH	CHaPh (J _{Ha,Ha})	CHbPh	Ac
(XXVII) Galα1-	5.07д (3.5)	4.10дд (11.0)	4.24дд (3.5)	—	—	—	—	—	—	1.80
-3GalNAcα1-OBn (CDCl ₃)	5.12д (3.5)	—	—	—	—	5.96д (8.5)	5.35с	—	—	—
(XXX) Galα1-	5.20д (3.4)	5.27дд (11.0)	5.12дд (3.0)	5.41дд (0.9)	4.43м	—	—	—	—	1.84, 1.92, 1.98, 2.05,
-3GalNAcα1-OBn (CDCl ₃)	4.91д (3.7)	4.65м (11.3)	3.92дд (3.0)	5.35д (<1.0)	—	5.87д (10.0)	—	4.68д (11.6)	4.49д	2.06, 2.13, 2.14
(XXXI) Gal(N ₃)α1-	5.17д (3.5)	3.62дд (11.0)	5.27дд (3.0)	5.46д (1.0)	4.42т	—	—	—	—	1.92, 2.00, 2.02, 2.14
-3GalNAcα1-OBn (CDCl ₃)	5.10д (3.5)	4.78ддд (11.0)	3.95дд (3.0)	4.37д (<1.0)	3.68м	5.68д (8.5)	5.61с	4.70д (11)	4.54д	—
(XXXIb) Gal(N ₃)β1-	4.42д (8.0)	3.78дд (10.5)	4.76дд (3.0)	5.33д (<1.0)	3.83т	—	—	—	—	1.96, 2.05, 2.05, 2.14
-3GalNAcα1-OBn (CDCl ₃)	5.18д (3.5)	4.82ддд (11.0)	3.95дд (3.0)	4.37д (<1.0)	3.67м	5.54д (10.0)	5.56с	4.73д (11.5)	4.57д	—
(XXXII) GalNAcα1-	5.03д (3.7)	4.16дд (11.0)	3.71дд (3.0)	3.93д (<1.0)	3.80м	—	—	—	—	1.96, 1.99
-3GalNAcα1-OBn (D ₂ O)	4.95д (4.0)	4.32дд (11.0)	3.97дд (3.0)	4.14д (<1.0)	3.95м	—	—	4.74д (11.5)	4.53д	—

* Съемка спектров производилась на приборах с рабочей частотой 250 МГц (соединения (XXVII), (XXX), (XXXI)) и 500 МГц ((XXXI), (XXXIb)). Сигналы H-6a, H-6-b: 4.0–4.3 (XXVII, XXX, XXXI, XXXIb), 3.6–3.8 (XXXII).

** Защиты не показаны.

N 7.47. C₁₃H₂₁F₃N₂O₇. Вычислено, %: C 41.7; H 5.7; N 7.5. Полученный после дез-О-ацетилирования триол (Ха) суспендировали в 10 мл абс. ацетонитрила, прибавили 0.21 мл (1.4 ммоль) α,α-диметокситолуола, нагрели смесь при перемешивании до 50°C и прибавили 5 мг *n*-толуолсульфокислоты. Через 1 ч раствор охладили до комнатной температуры и оставили на 1 сут. Выпавшие кристаллы отделили и перекристаллизовали из этанола (выделили 120 мг соединения (VII)). В маточники добавили 0.5 мл пиридина, смесь упарили, остаток промыли эфиром и хроматографировали на колонке с силикагелем (элюция смесью хлороформ-метанол, 30 : 1–9 : 1). Суммарный выход бензилиденового производного (VII) составил 270 мг (84%), т. пл. 215–217°C, [α]_D –13° (с 0.5, метанол). Данные спектра ¹H-ЯМР приведены в табл. 1. Найдено, %: C 51.73; H 5.60; N 5.95. C₂₀H₂₅F₃N₂O₇. Вычислено, %: C 51.95; H 5.45; N 6.1.

(3-Трифторацетиламинопропил)-2-азидо-4,6-О-бензилиден-2-дезоксид-β-D-галактопиранозид (VIII). Раствор 1.9 г (5 ммоль) аномерной смеси 1-О-ацетатов 2-азидо-3,4,6-три-О-ацетил-2-дезоксид-β-D-галактопиранозы (XII) [15], 1.0 г (5.85 ммоль) 3-три-

фторацетиламинопропанола и 0.6 мл (5 ммоль) SnCl₄ в 20 мл дихлорметана выдержали 48 ч при 37°C в присутствии молекулярных сит 4 Å, затем вылили в лед, органическую фазу экстрагировали хлороформом, объединенные экстракты последовательно промыли водой, раствором бикарбоната натрия, водой, высушили над сульфатом натрия. После концентрирования реакционную смесь хроматографировали на силикагеле (элюция 0–20% этилацетатом в бензоле), выделили 0.28 г (15%) исходного ацетата (XII) и 1.63 г (67%) (3-трифторацетиламинопропил)-2-азидо-3,4,6-три-О-ацетил-2-дезоксид-β-D-галактопиранозид (XIIb) (90–95% аномерной чистоты по данным ¹H-ЯМР), из которого после дез-О-ацетилирования и бензилиденирования (по методике, приведенной выше для соединения (VII)) с последующей хроматографией на силикагеле (элюция смесью гексан-этилацетат, 1 : 1–1 : 4) выделили бензилиденовое производное (VIII), сироп, [α]_D –12° (с 1.8, хлороформ). Данные спектра ¹H-ЯМР приведены в табл. 1.

(3-Трифторацетиламинопропил)-2-азидо-4,6-О-бензилиден-2-дезоксид-α-D-галактопиранозид (IX). Аналогично описанному выше для β-гликозида

Таблица 4. Данные спектров ¹H-ЯМР биозидов (I)–(IV), (XVIII) (D₂O, 250 МГц)*

Соединение, звено**	H-1 (J _{1,2})	H-2 (J _{2,3})	H-3 (J _{3,4})	H-4 (J _{4,5})	H-5 (J _{5,6a})	H-6a (J _{5,6b})	H-6b (J _{6a,6b})	Ac
(I) GalNAcα1-	5.04д (3.5)	4.19дд (11.0)	3.75дд (3.0)	3.98д (<1.0)	3.82м	3.60–3.85		2.01с 2.03с
-3GalNAcβ1-Osp	4.48д (8.0)	4.02дд (11.0)	3.77дд (3.0)	4.09д (<1.0)	3.67м	3.60–3.85		
(II)*** Galβ1-	4.46д (7.5)	3.55дд (10.0)	3.63дд (3.0)	3.93д (<1.0)	–	–	–	2.05с
-3GalNAcβ1-Osp	4.51д (8.5)	4.02дд (10.5)	3.89дд (3.0)	4.20д (<1.0)	–	–	–	
(III) GalNAcα1-	5.09д (3.5)	4.23дд (11.0)	3.78дд (3.5)	4.03д (<1.0)		3.75–3.90		2.06с 2.09с
-3GalNAcα1-Osp	4.91д (3.5)	4.40дд (11.0)	4.02дд (3.0)	4.18д (<1.0)	3.91м	3.75–3.90		
(IV) Galα1-	5.12д (3.5)	3.82дд (10.0)	3.73дд (3.0)	3.97д (<1.0)	3.86т	3.77м	3.74м	2.08с
-3GalNAcα1-Osp	4.88д (3.8)	4.37дд (11.0)	4.02дд (3.0)	4.22д (<1.0)	3.92т	3.78м	3.75м	
(XVIII) GalNAcα1-	5.13д (3.5)	4.26дд (11.0)	4.01дд (3.2)	4.08д (<1.0)	4.20м	3.80м	3.78м	2.06с
-3Gal(N ₃)β1-Osp	4.50д (8.0)	3.64дд (11.0)	3.79дд (3.0)	4.12д (<1.0)	3.63м (7)	3.81дд (4.5)	3.74дд (11.0)	

* Сигналы 3-трифторацетиламинопропильной группы OCH₂CH₂CH₂N: 3.3–3.6; 1.8–2.0; 3.5–4.1.

** Защиты не показаны.

*** 500 МГц.

(VIII) из 3.62 г (9.7 ммоль) аномерной смеси 1-О-ацетатов 2-азидо-3,4,6-три-О-ацетил-2-дезоксид-*D*-галактопиранозы (XII), 1.9 г (11 ммоль) 3-трифторацетиламинопропанола и 0.7 мл (50 ммоль) Et₂O · BF₃ в 40 мл дихлорметана получили 0.93 г (22%) исходного ацетата и 2.55 г (54%) (3-трифторацетиламинопропил)-2-азидо-3,4,6-три-О-ацетил-2-дезоксид-*α-D*-галактопиранозид (XIIIa) (90–95% аномерной чистоты по данным ¹H-ЯМР). 0.97 г (2 ммоль) *α*-гликозида (XIIIa) дезацетилировали, бензилиденировали (см. выше) и после колоночной хроматографии (элюция смесью гексан–этилацетат, 2 : 1–1 : 2) выделили 760 мг (85%) бензилиденного производного (IX), т. пл. 125°C (хлороформ–гексан), [α]_D +160° (с 0.5, хлороформ). (См. [9]: т. пл. 129°C, [α]_D +155° (с 1, хлороформ).) Данные спектра ¹H-ЯМР приведены в табл. 1. Найдено, %: С 48.25; Н 5.00; N 12.90. С₁₁H₁₇F₃N₄O₆. Вычислено, %: С 48.4; Н 4.7; N 12.6.

(3-Трифторацетиламинопропил)-2-ацетиламино-3-О-(2-ацетиламино-3,4,6-три-О-ацетил-2-дезоксид-*α-D*-галактопиранозил)-4,6-О-бензилиден-2-дезоксид-*β-D*-галактопиранозид (XIV). Смесью 140 мг (0.3 ммоль)

соединения (VII), 835 мг (3 ммоль) карбоната серебра, 26 мг перхлората серебра и 2 г молекулярных сит 4 Å в 10 мл дихлорметана выдержали 1 ч при комнатной температуре в токе азота, затем добавили еще 0.5 г сит и в течение 0.5 ч прибавили к смеси раствор 270 мг (0.76 ммоль) 2-азидо-3,4,6-три-О-ацетил-2-дезоксид-*β-D*-галактопиранозилхлорида (XI) [15] в 5 мл дихлорметана. Смесью выдерживали 24 ч, затем разбавили хлороформом, профильтровали, фильтрат последовательно промыли водой, раствором бикарбоната натрия, водой, высушили над сульфатом натрия и упарили. Хроматографией на силикагеле (элюция 30–70% этилацетатом в гексане) выделили 190 мг смеси, содержащей, по данным ¹H-ЯМР, гликозид (XIII) в качестве основного компонента. 140 мг этой смеси гидрировали и после хроматографии на силикагеле (элюция смесью толуол–ацетон, 10 : 1–2 : 1) выделили 90 мг (53%) ацетиламино производного (XIV), т. пл. 123–125°C (дихлорметан–гексан), [α]_D +72° (с 1, хлороформ). Данные спектра ¹H-ЯМР приведены в табл. 2. Найдено, %: С 51.00, Н 5.80. С₃₄H₄₄F₃N₃O₁₅. Вычислено, %: С 51.6, Н 5.6.

Таблица 5. Данные спектров ^{13}C -ЯМР соединений (I)–(IV), (Xa) (250 МГц)

Соединение, звено (растворитель)	C1 ($J_{\text{C1,H}}$)	C2	C3	C4	C5	C6	CHO	CCC	CHN
(I)* GalNAc α 1- -3GalNAc β 1-Osp (D ₂ O)	94.7 102.4	50.6 51.9	68.6 76.3	69.6 64.9	72.6 76.1	62.3 62.3	69.0	29.0	38.0
(II) Gal β 1- -3GalNAc β 1-Osp (CD ₃ OD)	106.6 (161.1) 102.6 (161.1)	72.5 53.1	74.6 81.6	70.3 69.6	76.8 76.4	62.5 62.5	67.5	29.9	38.0
(III)* GalNAc α 1- -3GalNAc α 1-Osp (D ₂ O)	94.7 98.3	50.7 49.2	69.0 73.6	69.6 66.1	72.6 72.1	62.5** 62.2**	65.9	28.8	37.9
(IV) Gal α 1- -3GalNAc α 1-Osp (D ₂ O)	96.4 98.5	69.4 49.4	70.5 74.2	70.8 66.1	72.1 72.7	62.8** 62.4**	66.0	28.9	38.0
(Xa) GalNAc β 1- -Osp (D ₂ O)	103.0 (170.9)	53.7	72.3	69.1	72.4	62.3	68.6	29.1	38.0

* 500 МГц.

** Отнесение сигналов C-6 и C-6' может быть обратным.

(3-Трифторацетамидопропил)-2-азидо-3-О-(2-азидо-3,4,6-три-О-ацетил-2-дезоксид- α -D-галактопиранозил)-4,6-О-бензилиден-2-дезоксид- β -D-галактопиранозид (XV). А. Смесь 300 мг (0.67 ммоль) соединения (VIII), 1.4 г (5.1 ммоль) карбоната серебра, 55 мг перхлората серебра и 2 г молекулярных сит 4 Å в 15 мл дихлорметана выдержали 1 ч при комнатной температуре, затем добавили еще 1 г сит и в течение 0.5 ч прибавили к смеси раствор 590 мг (1.68 ммоль) азидохлорида (XI) в 15 мл дихлорметана. Смесь выдержали 24 ч, затем обработали как описано выше для соединения (XIV). Хроматографией на силикагеле (элюция смесью этилацетат-гексан, 1.5 : 1–2 : 1) выделили 380 мг (70%) биозида (XV), аморфный, $[\alpha]_D +72^\circ$ (с 1.2, хлороформ). Данные спектра ^1H -ЯМР приведены в табл. 2.

Б. Аналогично из 160 мг (0.36 ммоль) соединения (VIII) и 3.3 г (0.95 ммоль) азидохлорида (XI) в присутствии 1.05 г (3.8 ммоль) карбоната серебра и 10 мг трифлата серебра получили 0.21 г (77%) биозида (XV).

(3-Трифторацетамидопропил)-2-азидо-3-О-(2-ацетамидо-2-дезоксид- α -D-галактопиранозил)-2-дезоксид- β -D-галактопиранозид (XVIII). 170 мг (0.22 ммоль) биозида (XV) гидрировали над 150 мг 10% Pd/C в течение 48 ч. После хроматографии на силикагеле (элюция 3–10% метанолом в хлороформе) выделили 85 мг (50%) бис-ацетамидного производного (XIV) и 80 мг смеси веществ с боль-

шей хроматографической подвижностью (ТСХ: 8% метанола в хлороформе), из которой после дебензилиденирования и О-ацетилирования с последующей хроматографией на силикагеле (элюция 0–5% метанолом в хлороформе) и ВЭЖХ-очисткой (Zorbax Sil, 1% этанола + 2% метанола в хлороформе) выделили как основной компонент (3-трифторацетамидопропил)-2-азидо-3-О-(2-ацетамидо-3,4,6-три-О-ацетил-2-дезоксид- α -D-галактопиранозил)-4,6-ди-О-ацетил-2-дезоксид- β -D-галактопиранозид (XVII), $[\alpha]_D +49^\circ$ (с 1, хлороформ), ИК 2120 cm^{-1} , масс-спектр: 772 [$M + 1$], ^{13}C -ЯМР (500 МГц, CDCl₃): 171.6, 171.2, 171.0 (C OCH₃), 103.6, 98.6 (C1, C1'), 76.7, 71.7, 69.8, 68.4, 68.3, 68.1, 61.8, 48.1 (C2, C2', C3, C3', C4, C4', C5, C5'), 66.7 (CH₂O), 62.7, 62.4 (C6, C6'), 38.8 (CH₂N), 29.1 (C C H₂C), 23.7, 21.4, 21.3 (CO C H₃), данные спектра ^1H -ЯМР приведены в табл. 2. После дез-О-ацетилирования и ВЭЖХ (Partisil 10, ODS-3, элюция 5–30% ацетонитрилом в воде) выделили аналитическое количество биозида (XVIII), $[\alpha]_D +113^\circ$ (с 0.26, вода), масс-спектр: 562 [$M + 1$]. Данные спектра ^1H -ЯМР приведены в табл. 4.

(3-Трифторацетамидопропил)-2-ацетамидо-3-О-(2-ацетамидо-2-дезоксид- α -D-галактопиранозил)-2-дезоксид- β -D-галактопиранозид (I). 14 мг (18 мкмоль) биозида (XIV) дебензилиденировали, остаток после удаления растворителей выдержали в вакуум-эксикаторе над щелочью. Дез-О-ацетилированием

с последующей ВЭЖХ-очисткой продукта (Partisil 10, ODS-3, элюция 2–25% ацетонитрилом в воде) выделили 8 мг (77%) биозида (I), аморфный, $[\alpha]_D + 101^\circ$ (с 0.5, вода), масс-спектр: 578 $[M + 1]$, данные спектров ^1H - и ^{13}C -ЯМР приведены в табл. 4 и 5 соответственно. Для аналитических целей последовательным дебензилиденированием и ацетилированием соединения (XIV) было получено производное дисахарида Форссмана (3-трифторацетамидопропил)-2-ацетидамо-3-О-(2-ацетидамо-3,4,6-три-О-ацетил-2-дезоксид- α -D-галактопиранозил)-4,6-ди-О-ацетил-2-дезоксид- β -D-галактопиранозид (XIX), аморфное, $[\alpha]_D + 40^\circ$ (с 1, хлороформ), масс-спектр: 788 $[M + 1]$, ^{13}C -ЯМР (500 МГц, CDCl_3): 172.5, 172.3, 172.1, 171.3, 171.2, 171.0 ($\text{C}-\text{OCH}_3$), 100.9, 100.4 (C1, C1'), 71.3, 70.9, 68.3, 67.9, 67.8, 66.1, 55.3, 48.0 (C2, C2', C3, C3', C4, C4', C5, C5'), 68.8 (CH_2O), 62.8, 62.0 (C6, C6'), 38.4 (CH_2N), 29.1 ($\text{C}-\text{CH}_2\text{C}$), 24.2, 23.6, 21.5, 21.4, 21.3 ($\text{CO}-\text{NH}_2$), данные спектра ^1H -ЯМР приведены в табл. 2.

(3-Трифторацетамидопропил)-2-ацетидамо-3-О-(β -D-галактопиранозил)-2-дезоксид- β -D-галактопиранозид (II). А. 370 мг (0.82 ммоль) соединения (VII), 2 г молекулярных сит 4 Å, 0.12 мкл (1.0 ммоль) тетраметилмочевины и 0.26 г (1.0 ммоль) трифлата серебра в 25 мл дихлорметана выдерживали 0.5 ч при комнатной температуре в токе азота, затем в течение 3 ч прибавили раствор 440 мг (1.3 ммоль) ацетобромгалактозы (XIb) в 10 мл дихлорметана. Смесь выдержали 24 ч и затем прибавили еще 160 мг (0.6 ммоль) трифлата серебра, 70 мкл (0.6 ммоль) тетраметилмочевины и раствор 240 мг (0.6 ммоль) ацетобромгалактозы. Через 24 ч смесь обработали как описано выше для соединения (XIV), остаток хроматографировали на силикагеле (элюция 3–10% метанолом в хлороформе); полученные 320 мг (50%) дисахарида (XX) дебензилиденировали и ацетилировали. Хроматографией на силикагеле (элюция смесью толуол–ацетон, 3 : 1–1 : 1) выделили 290 мг (45%, считая на соединение (VII)) гексаацетата (XXI), идентичного полученному ранее [9]. Данные спектра ^1H -ЯМР приведены в табл. 2.

Б. 1.1 г (2.48 ммоль) соединения (VIII), 5 г молекулярных сит 4 Å, 0.43 мкл (3.72 ммоль) тетраметилмочевины и 0.96 г (3.72 ммоль) трифлата серебра в 50 мл дихлорметана выдержали 0.5 ч при комнатной температуре в токе азота, затем в течение 3 ч прибавили раствор 2.04 г (4.96 ммоль) ацетобромгалактозы в 10 мл дихлорметана. Смесь выдерживали 24 ч и затем прибавили еще 1 г ацетобромгалактозы. Через 24 ч смесь обработали и после хроматографии на силикагеле (элюция 5–30% этилацетатом в бензоле) выделили 1.49 г (78%) дисахарида (XXII), из которого последовательным дебензилиденированием, превращением азидной

группы в ацетидамидную и ацетилированием получили соединение (XXI). Перацетат (XXI) дез-О-ацетилировали, получая биозид (II) с количественным выходом. Аналитический образец дополнительно очищали ВЭЖХ (элюция 5–40% метанолом в воде); аморфное, $[\alpha]_D - 16^\circ$ (с 0.2, метанол). Данные спектров ^1H - и ^{13}C -ЯМР приведены в табл. 4 и 5 соответственно.

(3-Трифторацетамидопропил)-2-азидо-3-О-(2-азидо-3,4,6-три-О-ацетил-2-дезоксид- α -D-галактопиранозил)-4,6-О-бензилиден-2-дезоксид- α -D-галактопиранозид (XXIII). По методике, приведенной выше для соединения (XIV), гликозилировали 450 мг (1 ммоль) соединения (IX) азидохлоридом (XI) (875 мг, 2.5 ммоль) в присутствии 2.8 г (10 ммоль) карбоната серебра, 80 мг перхлората серебра и 3.5 г молекулярных сит 4 Å. После хроматографии на силикагеле (элюция смесью этилацетат–гексан, 1.5 : 1–2 : 1) выделили 740 мг (95%) биозида (XXIII), т. пл. 158°C, $[\alpha]_D + 232^\circ$ (с 1, хлороформ). Данные спектра ^1H -ЯМР приведены в табл. 2. Найдено, %: С 47.44; Н 4.92; N 13.2. $\text{C}_{30}\text{H}_{36}\text{F}_3\text{N}_7\text{O}_{13}$. Вычислено, %: С 47.6; Н 4.8; N 12.9.

(3-Трифторацетамидопропил)-2-ацетидамо-3-О-(2-ацетидамо-2-дезоксид- α -D-галактопиранозил)-2-дезоксид- α -D-галактопиранозид (III). А. 47 мг (59 мкмоль) биозида (XXIII) гидрировали, остаток дебензилиденировали и после удаления растворителей выдержали в вакуум-эксикаторе над щелочью. Получили бис-ацетидамидное производное (XXIV), $[\alpha]_D + 148^\circ$ (с 0.25, метанол), из которого после дез-О-ацетилирования с последующей ВЭЖХ-очисткой (Partisil 10, ODS-3, элюция 5–30% ацетонитрилом в воде) выделили 20 мг (60%) биозида (III), аморфный, $[\alpha]_D + 162^\circ$ (с 1, вода), масс-спектр: 578 $[M + 1]$. Данные спектров ^1H - и ^{13}C -ЯМР приведены в табл. 4 и 5 соответственно.

Б. 60 мг (75 мкмоль) соединения (XXIII) дебензилиденировали и после хроматографии на силикагеле (элюция 0–4% метанолом в хлороформе) выделили 35 мг (66%) диола (XXIIIa), из которого после гидрирования получили 36 мг (87%) бис-ацетидамидного производного (XXIV). Дез-О-ацетилирование с последующей ВЭЖХ-очисткой (колонка 10 × 250 мм, Ultrasphere ODS, 5 мкм (Beckman), элюция 5–35% ацетонитрилом в воде) дало 26 мг (60% считая на (XXIII)) соединения (III).

(3-Трифторацетамидопропил)-2-ацетидамо-3-О-(α -D-галактопиранозил)-2-дезоксид- α -D-галактопиранозид (IV). 450 мг (1.0 ммоль) соединения (IX), 0.76 г (3 ммоль) цианида ртути и 2 г молекулярных сит 4 Å в 50 мл бензола перемешивали 1 ч в токе аргона при 20°C. Затем прибавили в течение 1 ч раствор 3 ммоль 2,3,4,6-тетра-О-бензил- α -D-галактопиранозилбромаида (XIc) [19] в 10 мл бензола и еще 1 г сит 4 Å и перемешивали 30 ч при комнатной температуре. Смесь разбавили хлороформом, профильтровали и упарили. Остаток растворили в

хлороформе, последовательно промыли растворами иодида калия, бикарбоната натрия, водой, профильтровали через слой ваты и хроматографировали на силикагеле (элюция смесью толуол-ацетон, 15 : 1–2 : 1). Выделили 870 мг (90%) смеси α -биозида (XXV) и β -биозида (XXVb) (соотношение аномеров, определенное ВЭЖХ (Partisil 10, элюция смесью толуол-ацетон, 15 : 1–2 : 1), составило 6 : 1), а также аналитическое количество индивидуального α -производного (XXV) ($[\alpha]_D + 150^\circ$ (c 0.9, хлороформ), данные спектра ^1H -ЯМР приведены в табл. 2). 870 мг (0.9 ммоль) смеси биозидов (XXV) и (XXVb) дебензилиденировали и после хроматографии на силикагеле (элюция смесью толуол-ацетон, 4 : 1) выделили 700 мг (90%) продуктов дебензилиденирования: 290 мг гомогенного α -биозида (XXVc) и 410 мг смеси α - и β -биозидов (XXVc и XXVd). 410 мг (0.46 ммоль) этой смеси подвергали гидрогенолизу, полученную смесь α - и β -биозидов (IV и IVb) разделили ВЭЖХ (Силасорб С18, элюция 5–40% метанолом в воде), выделили 50 мг (20%) дисахарида Gal β 1-3GalNAc α 1-Osp (IVb) [14] и 140 мг (57%) биозида (IV), т. пл. 240°C (этанол-этилацетат), $[\alpha]_D + 156^\circ$ (c 0.5, вода) (см. [8]; аморфное, $[\alpha]_D + 101^\circ$ (c 0.4, вода)). Данные спектров ^1H - и ^{13}C -ЯМР приведены в табл. 4 и 5 соответственно. Найдено, %: С 42.25; Н 5.94; N 4.92. $\text{C}_{19}\text{H}_{31}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_{12}$. Вычислено, %: С 42.5; Н 5.8; N 5.2.

Бензил-2-ацетиамидо-3-О-(2,3,4,6-тетра-О-бензил- α -D-галактопиранозил)-4,6-О-бензилиден-2-дезоксид- α -D-галактопиранозид (XXVII). 155 мг (0.39 ммоль) бензил-2-ацетиамидо-4,6-О-бензилиден-2-дезоксид- α -D-галактопиранозид (XXVI) [17], 980 мг (3.9 ммоль) цианида ртути и 2 г молекулярных сит 4 Å в 10 мл бензола перемешивали 1 ч в токе аргона при 20°C . Затем прибавили в течение 3 ч раствор 1 ммоль бромид (XIc) [19] в 5 мл бензола и еще 0.5 г сит и перемешивали 30 ч при комнатной температуре. Смесь обработали как описано выше для соединения (XXV) и после хроматографии на силикагеле (элюция смесью гексан-этилацетат, 5 : 1–1 : 1) выделили 310 мг (85%) биозида (XXVII), т. пл. 191°C , $[\alpha]_D + 143^\circ$ (c 1, хлороформ). Данные спектра ^1H -ЯМР приведены в табл. 3. Найдено, %: С 72.94; Н 6.44. $\text{C}_{56}\text{H}_{59}\text{NO}_{11}$. Вычислено, %: С 73.2; Н 6.5.

2-Ацетиамидо-2-дезоксид-3-О-(α -D-галактопиранозил)-D-галактопираноза (V). 40 мг (42 мкмоль) соединения (XXVII), 9 мг (50 мкмоль) перхлората пиридиния кипятили 5 ч в смеси 3.5 мл абс. метанола и 0.8 мл абс. нитрометана. Затем в реакционную смесь прибавили 0.5 мл пиридина и упарили. Остаток на стенках колбы промыли гексаном, растворили в хлороформе и хроматографировали на колонке с силикагелем (элюция смесью толуол-ацетон, 5 : 1–2 : 1). Полученный диол (XXVIII) (26 мг, 72%) подвергали гидрогенолизу в течение

1 сут в 10 мл смеси метанол-уксусная кислота, 8 : 1, над 50 мг 10% Pd/C. Гель-хроматографией (TSK HW-40, колонка 1.5 × 30 см, элюция водой) выделили 12 мг (80%) α -бензилгликозида (XXIX), $[\alpha]_D + 150^\circ$ (c 0.2, метанол), данные спектра ^1H -ЯМР перацетата (XXX) приведены в табл. 3. 12 мг бензилгликозида (XXIX) повторно подвергали гидрогенолизу в тех же условиях в течение 2 нед, периодически поднимая температуру до 40°C . После двукратной гель-хроматографии (TSK HW-40, колонка 2 × 55 см, первый раз – элюция метанолом, второй – водой) выделили 3 мг исходного бензилгликозида (XXIX) и 7 мг свободного дисахарида (V), $[\alpha]_D + 151^\circ$ (c 1, метанол), $[\alpha]_D + 121^\circ$ (c 0.7, вода, 1 сут). Данные спектра ^1H -ЯМР приведены в табл. 6.

Бензил-3-О-(2-азидо-3,4,6-три-О-ацетил-2-дезоксид- α -D-галактопиранозил)-2-ацетиамидо-4,6-О-бензилиден-2-дезоксид- α -D-галактопиранозид (XXXI). Смесь 200 мг (0.5 ммоль) соединения (XXVI), 1.38 г (5 ммоль) карбоната серебра, 40 мг перхлората серебра и 2 г молекулярных сит 4 Å в 10 мл дихлорметана выдерживали 1 ч при комнатной температуре в токе азота, затем добавили еще 0.5 г сит и в течение 0.5 ч прибавили к смеси раствор 350 мг (1 ммоль) азидохлорида (XI) в 5 мл дихлорметана. Смесь выдерживали 24 ч, обработали и хроматографией на силикагеле (элюция толуолом, затем смесью толуол-ацетон, 6 : 1–4 : 1) выделили 200 мг (56%) смеси α - и β -биозидов (XXXI) и (XXXIb) в соотношении α : β 92 : 8. Аномеры были разделены ВЭЖХ (Partisil 10, элюция смесью толуол-ацетон). Характеристики соединения (XXXI): т. пл. 180 – 181°C (хлороформ-ацетон-гексан), $[\alpha]_D + 205^\circ$ (c 0.5, хлороформ), данные спектра ^1H -ЯМР приведены в табл. 3. Найдено, %: С 57.50; Н 5.95; N 7.85. $\text{C}_{34}\text{H}_{40}\text{N}_4\text{O}_{13}$. Вычислено, %: С 57.3; Н 5.7; N 7.9.

Биозид (XXXIb): $[\alpha]_D + 112^\circ$ (c 0.3, хлороформ), данные спектра ^1H -ЯМР приведены в табл. 3.

Бензил-2-ацетиамидо-3-О-(2-ацетиамидо-2-дезоксид- α -D-галактопиранозил)-2-дезоксид- α -D-галактопиранозид (XXXII). 68 мг (95 мкмоль) соединения (XXXI) дебензилиденировали, остаток после удаления растворителей высушили в вакуум-эксикаторе над щелочью. Дез-О-ацетилирование и последующая хроматографическая очистка продукта на колонке с силикагелем (элюция 5% метанолом в хлороформе) дали 43 мг вещества, 40 мг которого подвергали гидрогенолизу в смеси 20 мл метанола и 1 мл уксусного ангидрида над 40 мг 10% Pd/C в течение 24 ч. Раствор профильтровали, упарили, профильтровали через тонкий слой силикагеля (элюция 30% метанолом в хлороформе). Выделили 35 мг (80%) ацетиамидного производного (XXXII), гомогенного по ВЭЖХ. Аналитический образец получен после ВЭЖХ-очистки (Partisil 10, ODS-3, элюция 10–50% метанолом в

Таблица 6. Данные спектров ¹H-ЯМР дисахаридов (V) и (VI) (D₂O, 250 МГц)*

Соединение	Звено	H-1 (J _{1,2})	H-2 (J _{2,3})	H-3 (J _{3,4})	H-4 (J _{4,5})	H-5	
(V), α-аномер	Galα1-	5.13д (3.5)	3.83дд (10.5)	3.75дд (3.0)	3.99д (1.0)	—	
	-3GalNAcα	5.22д (3.5)	4.35дд (11.0)	4.02дд (3.0)	4.25д (<1.0)	4.11м	
	β-аномер	Galα1-	5.15д (3.5)	3.83дд (10.5)	3.75дд (3.0)	3.99д (1.0)	—
		-3GalNAcβ	4.74д (8.5)	4.04дд (11.0)	3.82дд (3.0)	4.19д (<1.0)	3.70м
(VI), α-аномер	GalNAcα1-	5.04д (3.7)	4.19дд (11.0)	3.75дд (3.0)	3.98д (<1.0)	3.81м	
	-3GalNAcα	5.19д (3.5)	4.32дд (11.0)	3.96дд (3.0)	4.15д (<1.0)	4.05м	
	β-аномер	GalNAcα1-	5.06д (3.7)	4.19дд (11.0)	3.74дд (3.0)	3.98д (<1.0)	3.81м
		-3GalNAcβ	4.70д (8.5)	4.00дд (11.0)	3.75дд (3.0)	4.09д (<1.0)	3.62м

* Отнесение сигналов сделано с помощью двумерной спектроскопии COSY. Сигналы H-6a и H-6b: 3.7–3.8 м. д., сигналы CH₃CO-группы: 2.08 (соединение (V)), 2.01, 2.04, 2.05 (соединение (VI)).

воде или 2–40% ацетонитрилом в воде), [α]_D +213° (с 0.5, вода). Данные спектра ¹H-ЯМР приведены в табл. 3.

2-Ацетамидо-2-дезоксид-3-О-(2-ацетамидо-2-дезоксид-α-D-галактопиранозил)-D-галактопираноза (VI). 10 мг бензилгликозида (XXXII) подвергали гидрогенолизу в 10 мл смеси метанол–уксусная кислота, 1 : 1, над 30 мг 10% Pd/C в течение 5 ч при 40–50°C, а затем 5 дней при комнатной температуре. После ВЭЖХ-очистки (Partisil 10, ODS-3, элюция водой) выделили 6.5 мг (80%) свободного дисахарида (VI), [α]_D +143° (с 0.5, вода, 1 сут). Данные спектра ¹H-ЯМР приведены в табл. 6.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Leppanen A., Korvuo A., Puro K., Renkonen O. // Carbohydr. Res. 1986. V. 153. P. 87–95.
2. Suddugui B., Nakomori S. // J. Biol. Chem. 1971. V. 246. P. 5766–5769.
3. Kurosaka A., Nakajima H., Funakoshi I., Matsuyama M., Nagayo T., Yamashima I. // J. Biol. Chem. 1983. V. 258. P. 11594–11598.
4. Paulsen H., Aderman K. // Carbohydr. Res. 1988. V. 175. P. 163–172.
5. Nilsson U., Ray A.K., Magnusson G. // Carbohydr. Res. 1994. V. 252. P. 137–148.
6. Paulsen H., Jacquinet J.-C., Rust W. // Carbohydr. Res. 1982. V. 104. P. 195–219.
7. Jacquinet J.-C., Paulsen H. // Tetrahedron Lett. 1981. V. 22. P. 1387–1390.
8. Землянухина Т.В., Бовин Н.В., Байрамова Н.Э. // Докл. АН СССР. 1988. Т. 299. С. 129–131.
9. Бовин Н.В., Землянухина Т.В., Хорлин А.А. // Био-орган. химия. 1985. Т. 11. С. 1256–1264.
10. Bovin N.V., Korchagina E.Yu., Zemlyanukhina T.V., Byramova N.E., Galanina O.E., Zemlyakov A.E., Ivanov A.E., Zubov V.P., Mochalova L.V. // Glycoconj. J. 1993. V. 10. P. 142–151.
11. Галанина О.Е., Дерюгина Е.И., Оловникова Н.И., Носырев А.Е., Лапенков М.И., Чекнева Н.Б., Землянухина Т.В., Корчагина Е.Ю., Бовин Н.В. // Био-орган. химия. 1991. Т. 17. С. 1177–1187.
12. Галанина О.Е., Падманабхан С., Корчагина Е.Ю., Землянухина Т.В., Демин В.В., Бовин Н.В. // Био-орган. химия. 1992. Т. 18. С. 1177–1187.
13. Abramenko I.V., Gluzman D.F., Korchagina E.Yu., Zemlyanukhina T.V., Bovin N.V. // FEBS Lett. 1992. V. 307. P. 283–286.

14. Бовин Н.В., Землянухина Т.В., Хорлин А.Я. // Био-
орган. химия. 1986. Т. 12. С. 533–538.
15. Letieux R.U., Ratcliffe R.M. // Can. J. Chem. 1979.
V. 57. P. 1244–1251.
16. Шипова Е.В., Корчагина Е.Ю., Землянухина Т.В.,
Галанина О.Е., Бовин Н.В. // Биоорган. химия.
1993. Т. 19. С. 1095–1101.
17. Flowers H.M., Shapiro D. // J. Org. Chem. 1965. V. 30.
P. 2041–2043.
18. Байрамова Н.Э., Бакиновский Л.В., Кочет-
ков Н.К. // Изв. АН СССР. Сер. хим. 1985. С. 1140–
1145.
19. Lönn H. // Carbohydr. Res. 1985. V. 139. P. 105–113.

Synthesis of Terminal Disaccharide of Forssman's Antigen and Some of Its Analogs as Spaced Glycosides and Free Disaccharides

T. V. Ovchinnikova, A. G. Ter-Grigoryan, G. V. Pazynina, and N. V. Bovin

*Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences,
ul. Miklukho-Maklaya 16/10, GSP-7 Moscow, 117871 Russia*

Abstract—Spaced terminal disaccharide of Forssman's antigen GalNAc α 1–3GalNAc β 1–Osp, its analog GalNAc α 1–3GalNAc α 1–Osp, and disaccharides Gal β 1–3GalNAc β 1–Osp and Gal α 1–3GalNAc α 1–Osp [where sp denotes the (CH₂)₃NHCOCF₃ spacer] were synthesized. Spaced disaccharides were obtained from the (3-trifluoroacetamidopropyl)-2-acetamido-4,6-*O*-benzylidene-2-deoxy- β -*D*-galactopyranoside and its α - and β -analogs in which the 2-azido group was substituted for the 2-acetamido group. The azide glycosyl acceptors gave higher yields of the disaccharides. Azide glycosyl acceptors were prepared by the stereoselective glycosylation of 3-trifluoroacetamidopropanol with a mixture of 1-*O*-acetates of the 2-azido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-deoxy-*D*-galactopyranose anomers in the presence of Lewis acids. Disaccharides Gal α 1–3GalNAc and GalNAc α 1–3GalNAc were obtained from the benzyl 2-acetamido-4,6-*O*-benzylidene-2-deoxy- α -*D*-galactopyranoside.

Key words: tumor-associated antigens, Forssman's antigen; oligosaccharide synthesis.