



УДК 547.458-114

ТРИТИЛ-ЦИАНОЭТИЛИДЕНОВАЯ КОНДЕНСАЦИЯ КАК ПУТЬ СИНТЕЗА ВЫСОКОРАЗВЕТВЛЕННЫХ МАННООЛИГОСАХАРИДОВ

© 1998 г. Л. В. Бакиновский[#], П. И. Абронина, Н. К. Кочетков, А. А. Грачев*

Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН, 117913, Москва, В-334, Ленинский просп., 47;

* Высший химический колледж РАН, Москва

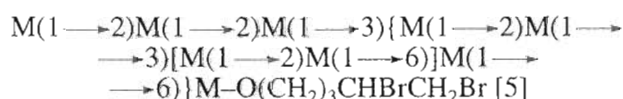
Поступила в редакцию 06.03.98 г. Принята к печати 18.05.98 г.

На примере синтеза сполна защищенных производных тетрасахарида 3-[(3,6- M_2) M]M-OMe (где M – остаток α -D-маннопиранозы) и гептасахаридов 3,6-[(3,6- M_2) M] M_2 M-OMe показана возможность получения высокоразветвленных манноолигосахаридов путем тритил-цианоэтилиденовой конденсации 1,2-O-(1-циано)этилиденевого производного маннотриозы как гликозил-донора с тритиловыми эфирами маннозы как гликозил-акцепторами.

Ключевые слова: 1,2-O-(1-циано)этилиденевого производные сахаров; тритил-цианоэтилиденевого конденсация; разветвленные манноолигосахариды; синтез.

Разветвленные олиго- и полисахариды, в том числе обладающие так называемой дендритной структурой, широко представлены в растительном и животном мире. Достаточно перечислить углеводные фрагменты гликопротеинов [1], крахмал и гликоген [1], маннаны дрожжей [2], галактаны улиток [3]. Разнообразие биологических свойств соединений с разветвленной углеводной структурой явилось мощным стимулом развития методов их химического синтеза.

Один из подходов к созданию олигосахаридов, содержащих моно- или дисахариды в качестве ответвлений от основной цепи, состоит в синтезе линейной избирательно защищенной (правильнее было бы сказать, избирательно “оголенной”) структуры и последующем введении боковых цепей (см., например, [4]). Построение более высокоразветвленных олигосахаридов может потребовать применения гликозил-доноров, уже содержащих разветвления. Примерами реализации этого подхода могут служить синтезы защищенных нонасахарида



(M – остаток α -D-маннопиранозы) и гептасахаридов 3,6-[(3,6- G_2) G] G_2 G-O(CH₂)₆NHCbz [6] (G – остаток β -D-глюкопиранозы) с использованием построенных по ступенчатой схеме пент-4-енилманнопентаозида и соответственно тиогликозида (3,6- G_2)G-SEt в качестве гликозил-доноров.

[#] Автор для переписки (тел.: (095) 938-36-86; факс: (095) 15-53-28; e-mail: leon@ioc.ac.ru).

В данной работе на примере синтеза производных тетрасахарида 3-[(3,6- M_2) M]M-OMe и гептасахаридов 3,6-[(3,6- M_2) M] M_2 M-OMe, моделирующих элементы N-гликанов маннозного (high-mannose) типа, путем избирательного введения одного или одновременно двух трисахаридных фрагментов в молекулу моносахаридного акцептора мы демонстрируем возможности применения тритил-цианоэтилиденевого конденсации [7] для получения высокоразветвленных олигосахаридов.

Необходимый для осуществления этой конденсации гликозил-донор, трисахаридное 1,2-O-(1-циано)этилиденевого производное (I), получен бисманнозилированием описанной ранее [8] 1,2-O-[1-(экто-циано)этилиден]- β -D-маннопиранозы в условиях реакции Гельфериха с последующим O-ацетилированием (подробнее этот синтез будет описан в отдельном сообщении). В роли гликозил-акцепторов, обеспечивающих необходимое разветвление, мы использовали известные метил-2,4-ди-O-ацетил- (и -O-бензил)-3,6-ди-O-тритил- α -D-маннопиранозиды (II) и (III) [9].

Гликозилирование дитритилового эфира (II) эквимольным количеством цианоэтилиденевого производного (I) в стандартных условиях тритил-цианоэтилиденевого конденсации, т.е. в дихлорметане в присутствии 0.1 экв. перхлората трифенилметилия в качестве катализатора с применением вакуумной техники [7], привело с выходом 55% к производному разветвленного тетрасахарида (IV) (схема 1).

При использовании двукратного количества гликозил-донора (I) в реакции с гликозил-акцепторами (II) и (III) с примерно одинаковыми выхо-

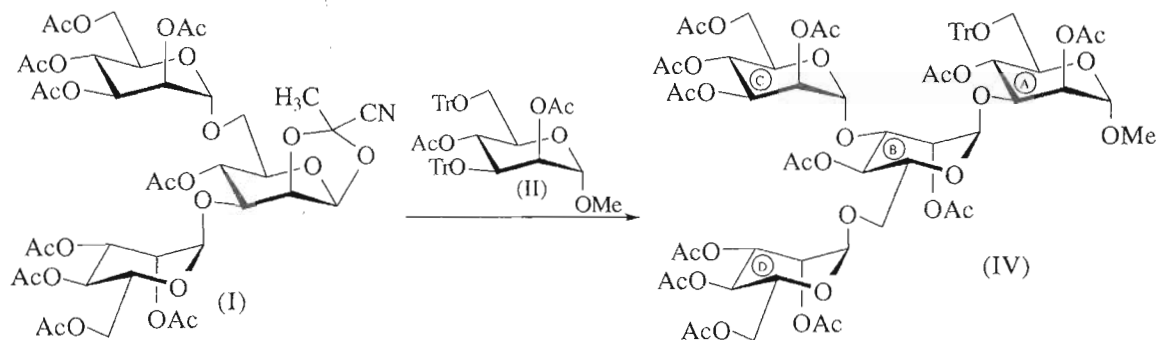


Схема 1.

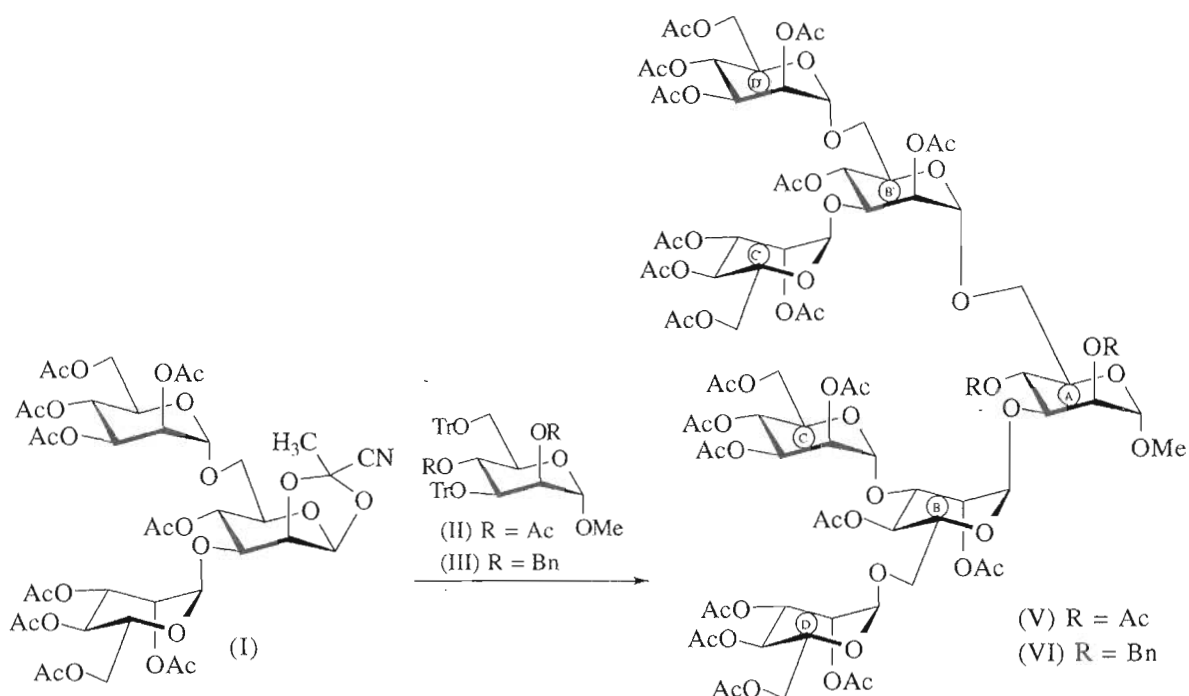


Схема 2.

дами (~60%) были получены производные разветвленных гептасакхаридов (V) и (VI) (схема 2).

Строение полученных защищенных олигосахаридов следовало из аналитических и спектральных данных.

Сигналы протонов моносахаридных остатков производного тетрасахарида (IV) отнесены с помощью 1D- и 2D-спектроскопии ЯМР (COSY, COSYRCT) (табл. 1). Величины констант спин-спинового взаимодействия вицинальных протонов всех моносахаридных остатков имеют стандартные для α -D-маннопиранозидов значения. Основываясь на этих данных, мы смогли сделать отнесения сигналов атомов углерода в спектре ^{13}C -

ЯМР (табл. 2). Анализ спектров ЯМР позволил однозначно приписать тетрасахариду (IV) строение C(1 \rightarrow 3)[D(1 \rightarrow 6)]B(1 \rightarrow 3)A-типа. Основанием для этого послужили следующие данные:

1) сигналы трех CH_2O -групп в спектре ^{13}C -ЯМР находятся в относительно сильном поле (δ 62.5, 62.2 и 61.9 м. д.), а сигнал одной CH_2O -группы – в относительно слабом поле за счет α -эффекта гликозилирования (δ 66.2 м. д.) (данные АРТ-спектра, рис. 1);

2) наличие корреляции сильнополюсных сигналов протонов H-3A и H-3B (δ_{H} 4.10 и 3.96 м. д.) со слабополюсными (за счет α -эффекта гликозилирования

Таблица 1. Данные спектра ^1H -ЯМР тетрасахарида (IV) (δ , м. д.)

Атом	Остаток			
	A	B	C	D
1	4.73	4.86	4.94	4.88
2	5.15	4.93	5.04	5.35
3	4.10	3.96	5.17	5.36
4	5.15	5.18	5.22	5.27
5	3.79	3.94	3.90	4.05
6a	3.12	3.54	4.00	4.10
6b	3.19	3.71	4.28	4.29
Прочие сигналы	1.95–2.17(CH_3CO), 3.41(OCH_3), 7.20–7.45(C_6H_5)			

КССВ (j , Гц)

КССВ	Остаток			
	A	B	C	D
$J_{1,2}$	1.5	1.5	1.5	1.5
$J_{2,3}$	4	3–4	3	4
$J_{3,4}$	10	10	10	10
$J_{4,5}$	10	10	10	10
$J_{5,6a}$	3	3	2.5	3
$J_{5,6b}$	6	6.5	5	5.5
$J_{6a,6b}$	10.5	12	12.5	12.5

вания) сигналами атомов углерода C-3A и C-3B (δ_{C} 75.2 и 74.7 м. д.) (HMQC-спектр);

3) наличие корреляций H-1A/OMe, H-1B/H-3A, H-1C/H-3B и H-1D/H-6B, выявленных с помощью спектроскопии ROESY.

Таким образом, избирательность гликозилирования первично-вторичных дитритиловых эфиров

сахаров в пользу вторичного акцепторного участка, обнаруженная нами [10] как результат исследования относительной реакционной способности тритиловых эфиров сахаров в тритил-цианоэтиленовой конденсации [11] и использованная в синтезе ряда олигосахаридов [12, 13], нашла подтверждение еще на одном примере. Отметим, что в соединении (IV) сохраняется O-тритильная группа, что позволяет использовать его как гликозил-акцептор для наращивания углеводной цепи по O-6 остатка A.

Молекулярная масса олигосахарида (V), определенная с помощью времяпролетной масс-спектрометрии с лазерно-десорбционной ионизацией (MALDI TOF MS), содержала ионы в области m/z [$M + \text{Na}$] и [$M + \text{K}$] и отвечала ожидаемой для этого соединения.

Отнесение сигналов в спектре ^1H -ЯМР гептасахарида (V) (табл. 3), как и в предыдущем случае, проведено с помощью 1D- и 2D-спектроскопии ЯМР (COSY, COSYRCT, TOCSY, ROESY). На основании сравнения величин химических сдвигов H-3 и H-6 отдельных моносахаридных остатков и наличия корреляций H-1A/OMe, H-1B/H-3A и H-1B'/H-6A, H-1C/H-3B и H-1D/H-6B, а также H-1C'/H-3B' и H-1D'/H-6B' (спектр ROESY, рис. 2) можно сделать однозначный вывод в пользу структуры дендритного типа.

В состав гептасахарида (V) входят сходные структурные элементы, что приводит к тому, что химические сдвиги большого числа протонов различаются незначительно. В особенности это справедливо в отношении остатков C и C' и в несколько меньшей степени – D и D'. Это обстоятельство затрудняет полную интерпретацию спектров ^{13}C -ЯМР с помощью $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -гетероядерного резонанса. Тем не менее идентификация аномерных атомов углерода и других характеристических сигналов (см. табл. 4): четырех AcOCH_2 -

Таблица 2. Данные спектра ^{13}C -ЯМР тетрасахарида (IV) (δ , м. д.)

Атом	Остаток			
	A	B	C	D
1	98.1	99.0	98.8	97.5
2	71.2	70.8	69.6	69.1
3	75.2	74.7	68.3	69.1
4	68.0	67.4	65.5	65.9
5	70.2	69.6	69.3	68.4
6	62.5	66.2	62.2*	61.9*
Прочие сигналы	20.3–21.0(CH_3CO); 54.6(OCH_3); 86.5(Ph_3CO); 126.9–129.0, 143.4, 143.7(C_6H_5); 169.3–170.6(CH_3CO)			

* Отнесение сигналов может быть обратным.

Таблица 3. Данные спектра ^1H -ЯМР гептасахарида (V) (δ , м. д.)

Атом	Остаток						
	A	B	B'	C	C'	D	D'
1	4.64	4.92	4.84	4.94	4.96	4.88	4.82
2	5.13	4.98	5.23	5.04	5.03	5.33	5.25
3	4.14	3.95	4.13	5.19	5.17	5.33*	5.28
4	5.20	5.20	5.26	5.25	5.25	5.20*	5.26
5	3.80	3.94	3.84	3.93	4.03	4.03	4.07
6a	3.50	3.63	3.51	3.99	4.03	4.08	4.10
6b	3.74	3.71	3.74	4.30	4.25	4.29	4.26
Прочие сигналы	1.90–2.10(CH_3CO), 3.34(OCH_3)						

* Отнесение сигналов может быть обратным.

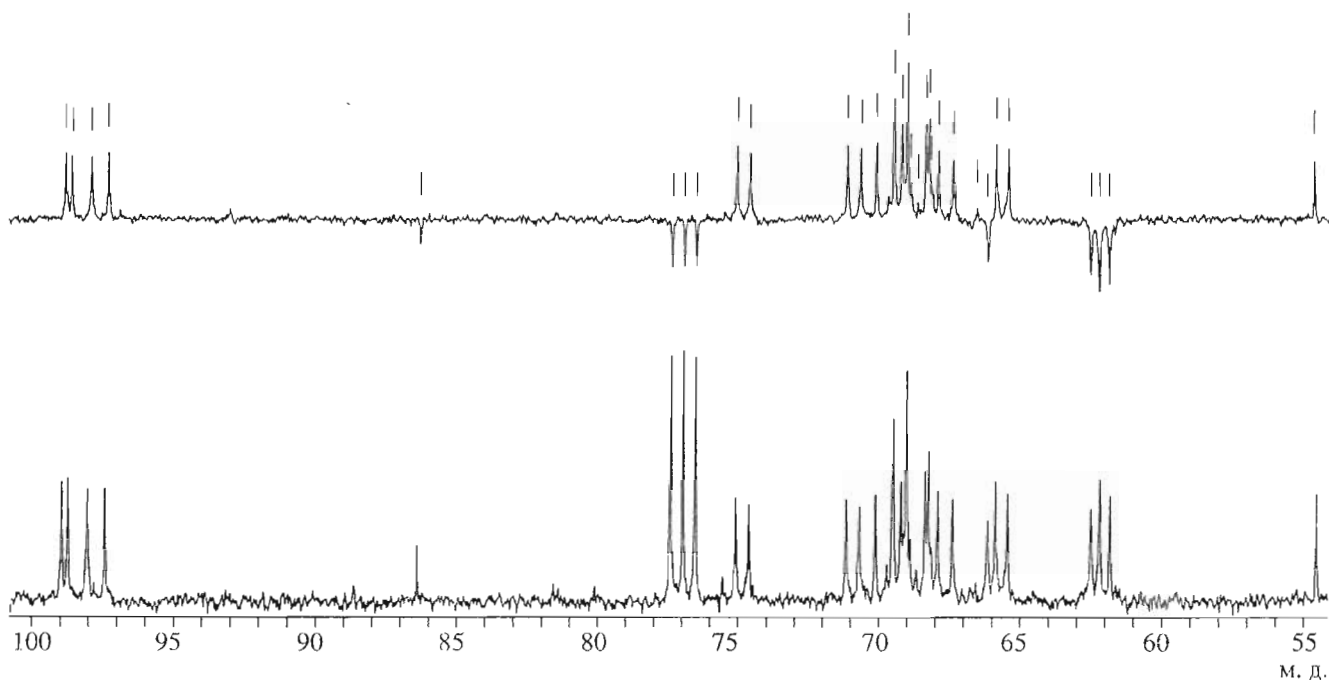


Рис. 1. Часть спектра ^{13}C -ЯМР тетрасахарида (IV) (нижний спектр) и спектр АРТ (верхний).

групп (δ 62.1 и 62.3 м. д.) и трех CH_2O -групп, связанных с углеводным заместителем (δ 66.0, 66.2 и 66.6 м. д., АРТ-спектр), а также трех слабополюсных атомов С в области $\delta \sim 75$ м. д., которым соответствуют высокополюсные сигналы протонов в спектре ^1H -ЯМР (δ 3.88, 4.06 и 4.08 м. д.), полностью согласуется с приписываемой соединению (V) структуре.

Анализ спектров ЯМР гептасахарида (VI) мы не проводили, его структура подтверждена данными элементного анализа и масс-спектрометрии.

Таким образом, приведенные данные демонстрируют перспективность подхода, основанного на тритил-цианозтилиденовой конденсации, для синтеза высококоразветвленных манноолигосахаридов.

Таблица 4. Данные спектра ^{13}C -ЯМР гептасахарида (V) (δ , м. д.)

Атом	Остаток						
	A	B	B'	C	C'	D	D'
1	98.3	100.2	97.2	98.9	100.2	97.6	97.6
2	71.1	70.8	70.7	69.8	69.8	68.7	69.2
3	75.0	75.0	75.4				
6	66.2*	66.0	66.6*	62.1	62.1	62.3	62.3
Прочие сигналы		20.6–20.8(CH_3CO); 55.1(OCH_3); 169.7–170.5(CH_3CO)					

* Отнесение может быть обратным.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Оптическое вращение определяли на поляриметре Jasco DIP-360 (Япония) при $\sim 20^\circ\text{C}$ в хлороформе. Спектры ^1H - и ^{13}C -ЯМР снимали на приборах Bruker AM-300 и Bruker DRX-500 (Германия) в CDCl_3 (внутренний стандарт – тетраметилсилан), значения химических сдвигов (м. д.) приведены в шкале δ . 2D-ЯМР-спектры получены с использованием стандартных программ Aspect 2000 и 3000 (COSY, COSYRCT, ROESY, HMQC). Масс-спектры регистрировали на приборе Vision 2000.

Вещества выделяли с помощью колоночной хроматографии, проводили на силикагеле Silpearl (Kavalier, Чехо-Словакия). Для анализа с помощью ТСХ использовали пластинки Merck DC-Alu-folien Kieselgel 60 F 254 (Германия), обнаружение веществ проводили опрыскиванием пластинок разбавленной H_2SO_4 с последующим нагреванием при 150°C . В случае соединений, содержащих тритильную группу, ярко-желтая окраска проявляется сразу после опрыскивания или при слабом нагревании. Перхлорат трифенилметилия готовили по известной методике [14] и переосаждали эфиром из раствора в нитрометане [15].

Дихлорметан перегоняли над P_2O_5 и CaH_2 и хранили над молекулярными ситами 3 Å. Растворители для проведения тритил-цианозтилиденовой конденсации (бензол, дихлорметан) дегазировали в вакуумной установке и перегоняли над CaH_2 . Растворы упаривали в вакууме водоструйного насоса при 40°C .

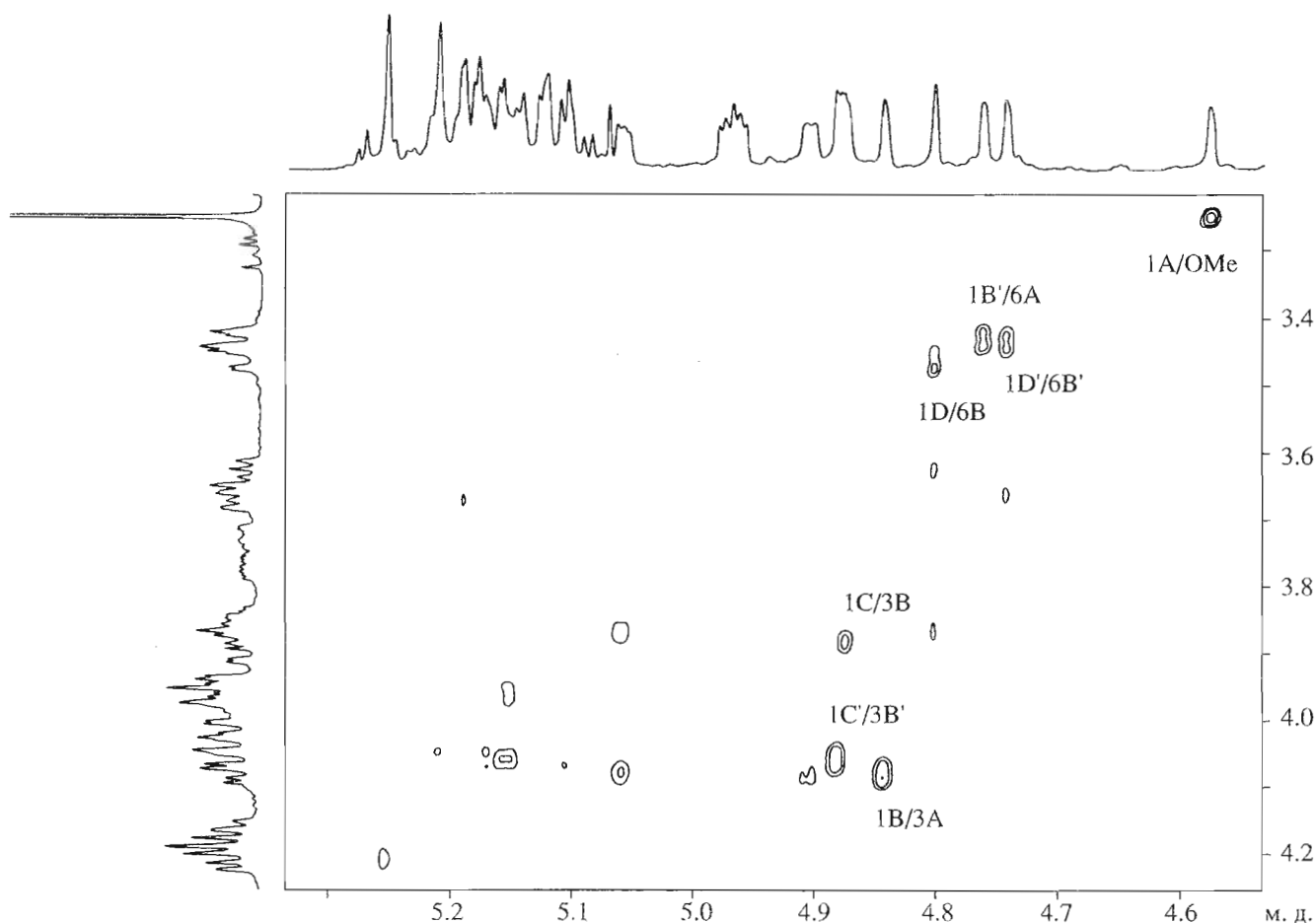


Рис. 2. Часть спектра ROESY гептасахарида (V).

Метил-2,4-ди-*O*-ацетил-3-*O*-[2,4-ди-*O*-ацетил-3,6-ди-*O*-(2,3,4,6-тетра-*O*-ацетил- α -*D*-маннопиранозил)- α -*D*-маннопиранозил]-6-*O*-тритил- α -*D*-маннопиранозид (IV). Гликозилирование тритилового эфира (II) цианоэтилиденовым производным (I) проводили по стандартной методике [7]. В один отвод λ -образной ампулы поместили раствор метил-2,4-ди-*O*-ацетил-3,6-ди-*O*-тритил- α -*D*-маннопиранозид (II) [8] (0.199 г, 0.26 ммоль) и цианоэтилиденового производного (I) (0.244 г, 0.26 ммоль) в 2 мл сухого бензола, в другой – раствор TrClO_4 (8.9 мг, 0.026 ммоль) в 0.2 мл сухого нитрометана. Ампулу соединили с вакуумной системой [(3–4) \times 10^{-3} Торр] и растворы лиофилизировали. Затем в отросток с реагентами перегнали 2 мл бензола и раствор лиофилизировали повторно. Остаток высушили при 30–40°C в течение 0.5 ч. Затем в ампулу перегнали 2 мл CH_2Cl_2 , растворы реагентов и катализатора смешали и оставили на ночь при комнатной температуре. К ярко-желтому раствору добавили каплю пиридина, обесцветившуюся смесь разбавили хлороформом, промыли водой и сконцентрировали. Колоночной хроматографией в си-

стеме толуол–этилацетат (1 : 2) выделили тетрасахарид (IV) с выходом 0.202 г (55%), $[\alpha]_D + 35.9^\circ$ (с 1.7). Найдено, %: С 57.80; Н 5.55. $\text{C}_{68}\text{H}_{82}\text{O}_{32}$ (1410.6). Вычислено, %: С 57.90; Н 5.86.

Метил-2,4-ди-*O*-ацетил-3,6-ди-*O*-[2,4-ди-*O*-ацетил-3,6-ди-*O*-(2,3,4,6-тетра-*O*-ацетил- α -*D*-маннопиранозил)- α -*D*-маннопиранозил]- α -*D*-маннопиранозид (V). Гликозилирование дитритилового эфира (II) (0.114 г, 0.15 ммоль) проводили цианоэтилиденовым производным (I) (0.280 г, 0.3 ммоль) в присутствии 10 мг (0.03 ммоль) TrClO_4 в описанных выше условиях. После хроматографии в системе толуол–этилацетат (1 : 2) получили гептасахарид (V) с выходом 0.195 г (59%), $[\alpha]_D + 50.3^\circ$ (с 1.4). Найдено, %: С 50.09; Н 5.80. $\text{C}_{87}\text{H}_{118}\text{O}_{58}$ (2091). Вычислено, %: С 49.93; Н 5.69. Масс-спектр: m/z 2117 $[M + \text{Na} + 3]^+$, 2133 $[M + \text{K} + 3]^+$.

Метил-2,4-ди-*O*-бензил-3,6-ди-*O*-(2,4-ди-*O*-ацетил-3,6-ди-*O*-(2,3,4,6-тетра-*O*-ацетил- α -*D*-маннопиранозил)- α -*D*-маннопиранозил]- α -*D*-маннопиранозид (VI) получен в аналогичных условиях из дитритилового эфира (III) (0.129 г, 0.15 ммоль) и цианоэтилиденового производного (I) (0.280 г,

0.3 ммоль) в присутствии 10 мг (0.03 ммоль) TiCl_4 с выходом 0.190 г (58%), $[\alpha]_D^{+92}$ (с 0.75).

Найдено, %: С 52.90; Н 6.24. $\text{C}_{97}\text{H}_{126}\text{O}_{56}$ (2187).
Вычислено, %: С 53.26; Н 5.81. Масс-спектр: m/z 2212 $[M + \text{Na} + 2]^+$, 2228 $[M + \text{K} + 2]^+$.

Данная работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 96-03-34354а).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Овчинников Ю.А. Биорганическая химия. М.: Просвещение, 1987.
2. Stephen A.M. // The Polysaccharides. V. 2 / Ed. G.O. Aspinall. New York; London; Paris; San Diego; San Francisco; São Paulo; Sydney; Tokyo; Toronto: Acad. Press, 1983. P. 97–193.
3. Bretting H., Whittaker N.F., Kabat E.A., Königsmann-Lange K., Thiem H.-J. // Carbohydr. Res. 1981. V. 98. P. 213–236.
4. Wang Z.-C., Zhang X.-F., Ito Y., Nakahara Y., Ogasawa T. // Carbohydr. Res. 1996. V. 295. P. 25–39.
5. Merritt J.R., Naisang E., Fraser-Reid B. // J. Org. Chem. 1994. V. 59. P. 4443–4449.
6. Colonna B., Harding V.D., Nepogodiev S.A., Raymo F.M., Spencer N., Stoddart J.F. // Chem. Eur. J. 1998. V. 4 (in press).
7. Backinowsky L.V. // ACS Symp. Ser. 1994. V. 560. P. 36–50.
8. Ashton P.R., Brown C.L., Menser S., Nepogodiev S.A., Stoddart J.F., Williams D.J. // Chem. Eur. J. 1996. V. 2. P. 580–591.
9. Koto S., Morishima N., Yoshida T., Uchino M., Zen S. // Bull. Chem. Soc. Jpn. 1983. V. 56. P. 1171–1175.
10. Tsvetkov Yu.E., Kitov P.I., Backinowsky L.V., Kochetkov N.K. // Tetrahedron Lett. 1993. V. 34. P. 7977–7980.
11. Кумов П.И., Цветков Ю.Е., Бакиновский Л.В., Кочетков Н.К. // Изв. АН. Сер. хим. 1993. С. 1992–1998.
12. Tsvetkov Yu.E., Kitov P.I., Backinowsky L.V., Kochetkov N.K. // J. Carbohydr. Chem. 1996. V. 15. P. 1027–1050.
13. Demchenko A., Boons G.-J. // Tetrahedron Lett. 1997. V. 38. P. 1629–1632.
14. Dauben H.J., Jr., Honnen L.R., Harmon K.M. // J. Org. Chem. 1960. V. 25. P. 1442–1445.
15. Kochetkov N.K., Betaneli V.I., Ovchinnikov M.V., Backinowsky L.V. // Tetrahedron. 1981. V. 37. Suppl. 9. P. 149–156.

The Use of Trityl-Cyanoethylidene Condensation for the Synthesis of Highly Branched Mannooligosaccharides

L. V. Backinowsky*[#], P. I. Abronina*, N. K. Kochetkov*, and A. A. Grachev**

*Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Leninskii pr. 47, GSP-1 Moscow, 117913 Russia

**Higher Chemical College, Russian Academy of Sciences, Moscow, 125190 Russia

The synthesis of fully protected derivatives of tetrasaccharide 3-[(3,6- M_2)M]M-OMe and heptasaccharide 3,6-[(3,6- M_2)M]₂M-OMe, 3,6-[(3,6- M_2)M]₂M-OMe (where M is the α -D-mannopyranose residue) demonstrated the possibility of obtaining highly branched mannoooligosaccharides through trityl-cyanoethylidene condensation. In this condensation, the mannotriose 1,2-O-(1-cyano)ethylidene derivative and mannose trityl ethers were used as a glycosyl donor and glycosyl acceptors, respectively.

Key words: 1,2-O-(1-cyano)ethylidene carbohydrate derivatives, trityl-cyanoethylidene condensation, synthesis of branched mannoooligosaccharides

[#] To whom correspondence should be addressed; phone: +7 (095) 938-3686; fax: +7 (095) 15-5328; e-mail: leon@ioc.ac.ru.