



УДК 547.458.41.07

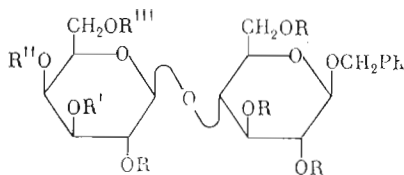
СИНТЕЗ ТРИ- И ТЕТРАСАХАРИДОВ — СТРУКТУРНЫХ
ИЗОМЕРОВ ОЛИГОСАХАРИДОВ МОЛОКА*Зурабян С. Э., Маркин В. А., Пименова В. В.,
Розынов В. В., Садовская В. Л., Хорлин А. Я.**Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина
Академии наук СССР, Москва*

Оксазолиновым методом синтезированы структурные изомеры олигосахаридов молока: О-2-ацетидамо-2-дезоксид-β-D-глюкопиранозил-(1 → 6)-О-β-D-галактопиранозил-(1 → 4)-D-глюкоза, О-β-D-галактопиранозил-(1 → 4)-О-2-ацетидамо-2-дезоксид-β-D-глюкопиранозил-(1 → 6)-О-β-D-галактопиранозил-(1 → 4)-D-глюкоза и О-β-D-галактопиранозил-(1 → 4)-О-2-ацетидамо-2-дезоксид-β-D-глюкопиранозил-(1 → 3)-О-β-D-галактопиранозил-(1 → 4)-D-глюкоза. В последнем случае не исключена примесь тетрасахарида с β-(1 → 4)-глюкозаминидной связью.

Гетероолигосахариды широко используются в изучении субстратной специфичности гликозидаз, акцепторной специфичности гликозилтрансфераз, в изучении структуры углеводных детерминант смешанных углеводсодержащих биополимеров. Синтетические олигосахариды являются удобными моделями для разработки методов структурного анализа соединений этого типа.

В настоящем сообщении описан синтез трисахарида (X), а также тетрасахаридов (XVI) и (XVIII), имеющих последовательность моносахаридных остатков лакто-N-тетраозы — олигосахарида женского молока, но отличающихся от последней типами межмономерных связей. Синтез указанных олигосахаридов осуществлен введением остатка N-ацетил-D-глюкозамина или соответственно N-ацетиллактозамина в производные лактозы. Гликозилирование проводили оксазолиновым методом [1—7], с помощью которого могут быть получены олигосахариды, вплоть до пентасахарида [7], с различными положениями гликозидных связей между моносахаридными остатками.

В качестве гликозилируемого компонента в синтезах трисахарида (X) и тетрасахарида (XVI) нами выбран бензил-2,3,6,2',3'-пента-О-ацетил-β-лактозид (III), поскольку известно [8—12], что при наличии двух незамещенных гидроксильных групп при C₍₂₎ и C₍₆₎ в производных глюко- и галактопираноз в конформации ⁴C₁ (D) гликозилированию избирательно подвергается первичная гидроксильная группа. Частичный ацетат (III) получен реакцией бензил-β-лактозида (I) с бензальдегидом в присутствии ZnCl₂ с последующим ацетилированием неочищенного 4',6'-О-бензилиденового производного уксусным ангидридом в пиридине и кислотным гидролизом соединения (II). Исследование продуктов взаимодействия лактозида (I) с бензальдегидом методами ГЖХ и ТСХ показало, что наряду с 4',6'-О-бензилиденным производным образуется 8—10% изомера, вероятно, с 3',4'-О-бензилиденовой защитой.



- (I) $R = R' = R'' = R''' = H$
 (II) $R = R' = Ac, R'' + R''' = >CHPh$
 (III) $R = R' = Ac, R'' = R''' = H$
 (IV) $R = R''' = H, R' + R'' = >CMe_2$
 (V) $R = R' = H, R'' + R''' = >CMe_2$
 (VI) $R = R''' = Ac, R' + R'' = >CMe_2$
 (VII) $R = R''' = Ac, R' = R'' = H$

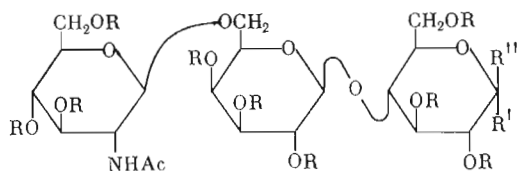
Эта примесь легко удаляется перекристаллизацией ацетата неочищенного лактозида (II), в результате чего продукт (II) был выделен с суммарным выходом 60%. Гидролиз ацетала (I) осуществляли 98%-ной CF_3COOH в хлороформе [13], что привело к пентаацетату (III) с выходом 42%. Использование для этой цели 90%-ной CF_3COOH [14] или водной CH_3COOH приводило к более полярным продуктам (анализ ТСХ) и сопровождалось, по-видимому, дезацетилированием.

В синтезе тетрасахарида (XVIII) в качестве гликозилируемого компонента был выбран бензил-2,3,6,2',6'-пента-О-ацетил- β -лактозид (VII), поскольку известно [13, 15—18], что при гликозилировании производных галактопиранозы в конформации ${}^4C_1(D)$ со свободными гидроксилами при $C_{(3)}$ и $C_{(4)}$ образуются олигосахариды с (1 \rightarrow 3)-гликозидной связью и лишь в двух случаях [19, 20] было отмечено конкурентное гликозилирование аксиального гидроксила при $C_{(4)}$, а также образование 3,4-бисгликозильного производного при действии большого избытка гликозилирующего агента [18]. Пентаацетат (VII) был получен по известной схеме [13, 16]: ацетонирование лактозида (I), ацетилирование образующегося производного (IV) и кислотный гидролиз ацетала (VI). Однако на стадии ацетонирования отмечено (ТСХ и ГЖХ) образование изомерного, по-видимому, 4', 6'-О-изопропилиденового производного (V) (что обычно отмечается при получении ацеталей *D*-галактозы [21]).

Здесь следует подчеркнуть высокие требования к чистоте получаемых агликоновых компонентов, особенно пентаацетата (VII), так как примесь в продукте (IV) изомерного ацетала (V) приведет в указанной схеме к изомерному пентаацетату (III), имеющему с соединением (VII) одинаковую подвижность при ТСХ во всех испробованных системах, и, следовательно, к существенному количеству (1 \rightarrow 6)-связанного олигосахаридов на стадии гликозилирования. Индивидуальный ацеталь (IV) был выделен кристаллизацией. Были предприняты попытки усовершенствовать метод постановки изопропилиденовой защиты в соединении (I), используя вместо *n*-толуолсульфокислоты другие кислотные катализаторы: безводные $CuSO_4$, $ZnCl_2$, $CuSO_4$ с H_2SO_4 или катионит КУ-2 (H^+ -форма). Однако они не привели к удовлетворительным результатам, а приводили либо к сопоставимым количествам изомерных соединений (IV) и (V), либо к значительным количествам продуктов деградации дисахаридов.

Для получения трисахаридов (X) осуществляли гликозилирование диола (III) 2-метил-(3,4,6-три-О-ацетил-1,2-дидезокси- α -*D*-глюкопирано)[2', 4' : 4,5]-2-оксазолином [22, 23] в смеси нитрометан-толуол в присутствии *n*-толуолсульфокислоты при $\sim 110^\circ$. После ацетилирования реакционной смеси (для облегчения выделения продукта гликозилирования) хроматографией на силикагеле было выделено производное трисахаридов (VIII)

с выходом 82%. Деацетилизированием по Земплеру из соединения (VIII) получен гликозид трисахарида (IX), структура которого подтверждена данными метанолиза, периодатного окисления и ферментативного гидролиза *N*-ацетил- β -*D*-глюкозаминидазой из эпидидимиса свиньи [24]. Каталитическое гидрирование гликозида (IX) приводит к трисахариду (X).

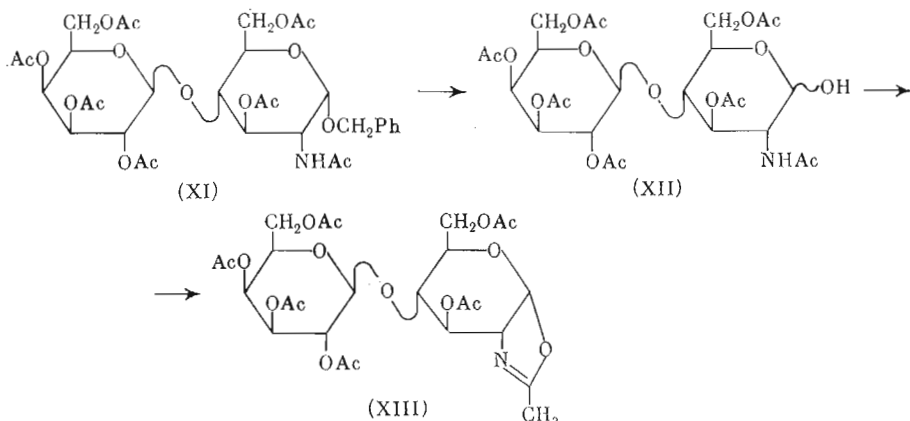


(VIII) $R = \text{Ac}$, $R' = \text{H}$, $R'' = \text{OCH}_2\text{Ph}$

(IX) $R = R' = \text{H}$, $R'' = \text{OCH}_2\text{Ph}$

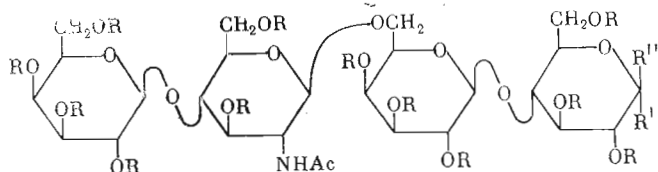
(X) $R = \text{H}$, $R' + R'' = \text{H, OH}$

Гликозилирующий агент в синтезе тетрасахаридов (XVI) и (XVIII) — оксазолиновое производное (XIII) — был получен, исходя из лактозаминида (XI) [25, 26] по следующей схеме:



Гидрогенолиз (XI) привел к частичному ацетату (XII), который в условиях синтеза оксазолиновых производных сахаров [22] превращен без выделения промежуточного гликозилхлорида в оксазолин (XIII) с выходом 49%, считая на соединение (XII)*.

Конденсацию оксазолина (XIII) с диолом (III) проводили в толуоле при $\sim 110^\circ$ в присутствии *n*-толуолсульфокислоты. Из сложной реакционной смеси после хроматографии, ацетилирования и рехроматографии на



(XIV) $R = \text{Ac}$, $R' = \text{H}$, $R'' = \text{OCH}_2\text{Ph}$

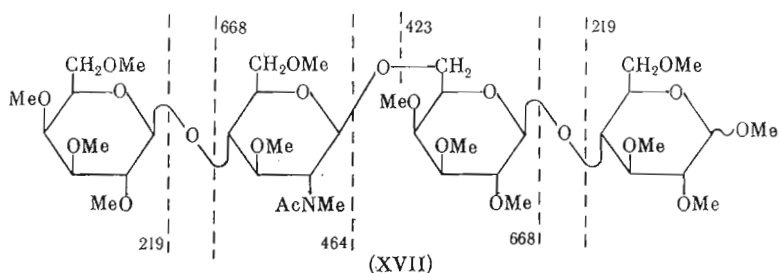
(XV) $R = R' = \text{H}$, $R'' = \text{OCH}_2\text{Ph}$

(XVI) $R = \text{H}$, $R' + R'' = \text{H, OH}$

* Во время подготовки данной статьи к печати опубликован аналогичный синтез оксазолина (XIII) из ацетата лактозаминида [5].

силикагеле был выделен защищенный тетрасахарид (XIV) с выходом 47%. О-Деацетилированием ацетата (XIV) получен гликозид (XV), который каталитическим гидрированием превращен в тетрасахарид (XVI).

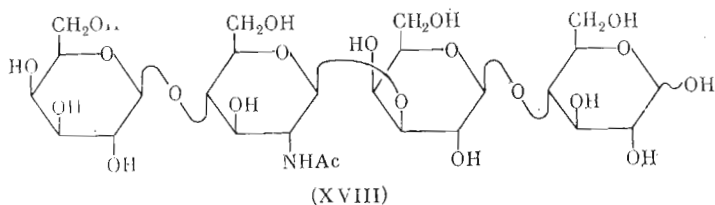
Моносахаридный состав тетрасахарида (XVI) подтверждается данными метанолиза, последовательность моносахаридных звеньев — масс-спектрометрией метилированного тетрасахарида (XVII) (ср. [27]).



Масс-спектр (XVII) содержит пики молекулярного иона (M^+ , m/e 903), а также ионов $M - 1$ (m/e 902) и $M - \text{MeOH}$ (m/e 871), что хорошо коррелирует со строением тетрасахарида, состоящего из указанных моносахаридных звеньев, последовательность которых подтверждается присутствием в масс-спектре ионов с m/e 219, 464, 668, с одной стороны, и m/e 219, 423, 668 — с другой, как приведено на схеме. Положение вновь образованной гликозидной связи доказано периодатным окислением гликозида (XV), а также хромато-масс-спектрометрией (ГЖХ-МС) ацетатов полиолов [28, 29], полученных после гидролиза метилированного тетрасахарида (XVII), боргидридного восстановления и ацетилирования.

β -D-Конфигурация глюкозаминидной связи в синтезированном тетрасахариде (XIV) вытекает из метода синтеза (до сих пор не отмечалось образования 1,2-цис-гликозаминидов в условиях оксазолинового синтеза [1—7]) и подтверждается расчетом по правилу Кляйна. Сумма молекулярных вращений ацетата бензил- β -лактозаминида [30] и агликонового компонента (III) составляет -355° , что хорошо согласуется с найденным для ацетата (XIV) молекулярным вращением (-338°). Суммирование молекулярных вращений ацетата бензил- α -лактозаминида [25] и агликонового компонента (III) дает величину $+313^\circ$.

Гликозилирование диола (VII) оксазолином (XIII) осуществляли в условиях, близких к указанным выше, но из сложной реакционной смеси хроматографией на силикагеле не удалось выделить продукт конденсации. После О-деацетилирования всей реакционной массы и каталитического гидрирования целевой тетрасахарид (XVIII) выделен препаративной хроматографией на бумаге с выходом 7%, считая на соединение (VII).



Моносахаридный состав и последовательность моносахаридных звеньев в соединении (XVIII) показаны, как и в случае соединения (XVI), соответственно метанолизом и масс-спектрометрией продукта метилирования тетрасахарида (XVIII). ГЖХ-МС ацетатов полиолов, полученных из метилированного тетрасахарида (XVIII), указывает на (1 → 3)-гликозидную связь между остатками N-ацетил-D-глюкозамина и D-галактозы. Из полученных результатов нельзя, однако, сделать вывод об отсутствии при-

меси (1 → 4)-изомера тетрасахарида (XVIII), так как времена удерживания ацетатов 2,3,6-три-О-метил-*D*-глюцита и *D*-галактита близки как на применяемой нами фазе (OV-17), так и на широко распространенной фазе ECNSS-M, а их масс-спектры одинаковы [28, 31]. Тем не менее мы считаем маловероятным образование тетрасахарида с (1 → 4)-связью, поскольку в близких условиях гликозилирования производного *D*-галактозы со свободными гидроксильными группами при C₍₃₎ и C₍₄₎ оксазолиновым производным было отмечено [18] образование дисахарида лишь с β-(1 → 3)-глюкозаминидной связью, а при избытке гликозилирующего агента образовывалось 3,4-бис-О-гликозильное производное.

Экспериментальная часть

Температуры плавления (исправленные) определены на приборе «Воетинс» (ГДР). Оптические вращения измерены на поляриметре «Perkin-Elmer 141» при 20—22°. ТСХ выполнена на силикагеле LS 5—40 мкм с 13% гипса (Chemapol, ЧССР), колоночная хроматография — на силикагеле LS 100—160 мкм (Chemapol, ЧССР). Пятна на пластинках с силикагелем обнаруживали опрыскиванием 20%-ной H₂SO₄ в метаноле с последующим нагреванием при 120°. БХ выполнена нисходящим методом на бумаге FN-1 (ГДР), препаративная БХ — на бумаге FN-18 в системе *изо*-C₅H₁₁OH — пиридин — вода (5 : 5 : 4). Производные олигосахаридов анализировали методом ГЖХ в виде триметилсилиловых эфиров. Для анализа применяли колонки с 2% OV-1 на хромосорбе HP (40 × 0,4 см) и 3% SE-30 на хромосорбе W (200 : 0,2 см); условия ГЖХ указаны в каждом конкретном случае. Масс-спектры сняты на приборе CH-5-DF при энергии ионизирующих электронов 70 эВ и температуре испарения образцов 220°. ГЖХ-МС выполнена на приборе LKB-9000; использовали колонку с 1,5% OV-17 на газ-хроме Q (температура ионизационной камеры 250°, энергия ионизирующих электронов 70 эВ). Метанолиз олигосахаридов проводили 0,75 н. HCl в метаноле при 80° в течение 24 ч в запаянной ампуле с последующей стандартной обработкой [32]. Растворители упаривали в вакууме при 30—40°.

Бензил-2,3,6,2',3'-пента-О-ацетил-4',6'-О-бензилиден-β-лактозид (II). Смесь 8,0 г бензил-β-лактозида (I) [33] и 5 г безводного ZnCl₂ перемешивали 30 ч в 190 мл свежеперегнанного бензальдегида. Массу выливали при перемешивании на лед, бензальдегид извлекали гексаном и водный слой вместе с маслом упаривали почти досуха. Остаток растирали с CHCl₃ (5 × 30 мл), экстракт упаривали и получили в остатке 8,2 г неочищенного бензилиденцевого производного, R_f 0,51 (CHCl₃ — MeOH, 5 : 1), содержащего минорную примесь с R_f 0,64. По данным ГЖХ (2% OV-1, 240—290° при 4°/мин), основной продукт имеет T_(I) 2,00, а 8—10%-ная примесь — T_(I) 1,84. Полученную смесь ацетилировали 25 мл Ac₂O в 25 мл пиридина, через 18 ч смесь выливали в воду со льдом, осадок отфильтровывали и промывали водой. Высушенный продукт перекристаллизовывали из абс. этанола и получили 8,1 г (суммарный выход 60%) вещества (II), т. пл. 223—225°, [α]_D²⁰ +10° (с 0,4; CHCl₃), ТСХ: R_f 0,45 (эфир — ацетон, 30 : 1). Найдено, %: С 59,22; Н 5,70. C₃₈H₄₂O₁₆. Вычислено, %: С 59,17; Н 5,79.

Бензил-2,3,6,2',3'-пента-О-ацетил-β-лактозид (III). Раствор 4,5 г ацетата (II) в смеси 27 мл CHCl₃ и 3 мл 98%-ной CF₃COOH выдерживали 50 мин при 20°. Смесь разбавляли 10 мл толуола и выпаривали досуха. Остаток хроматографировали на силикагеле (колонка 3 × 45 см) в системе CHCl₃ — ацетон (7 : 3). Хроматографически однородный продукт перекристаллизовывали из *изо*-PrOH и получили 1,60 г (42%) пентаацетата (III), т. пл. 194—199°, [α]_D²⁰ —28° (с 1; CHCl₃), ТСХ: R_f 0,47 (CHCl₃ — ацетон, 3 : 2), ГЖХ: T_{сахароза} 1,52 (2% OV-1, 200—290° при 4°/мин). Найдено, %: С 54,69; Н 6,03. C₂₉H₃₁O₁₅. Вычислено, %: С 54,20; Н 5,96.

Бензил-3',4'-О-изопропилиден-β-лактозид (IV). Раствор 6,0 г лактозида (I) и 0,5 г безводной *n*-толуолсульфокислоты в 1,5 л сухого ацетона кипятили 4 ч. Охлажденный раствор нейтрализовали анионитом АВ-17 (CO₃²⁻-форма) и упаривали досуха. Остаток дважды перекристаллизовывали из смеси MeOH — ацетон (1 : 4) и получили 1,3 г продукта (IV) с т. пл. 203—205°. Хроматографией маточного раствора на силикагеле (колонка 3 × 25 см) в системе CHCl₃ — MeOH (7 : 1) выделили дополнительно 1,3 г соединения (IV), суммарный выход 38%. Аналитический образец имеет т. пл. 205—206° (CHCl₃ — ацетон), [α]_D —16° (с 0,43; CHCl₃) (ср. [16]), ТСХ: R_f 0,62 (CHCl₃ — MeOH, 5 : 1). Обе фракции продукта (IV) индивидуальны по данным ГЖХ (2% OV-1, 200—290° при 4°/мин).

Бензил-2,3,6,2',6'-пента-О-ацетил-β-лактозид (VII). 2,45 г ацетала (IV) ацетилировали, а затем гидролизовали, как описано ранее [13, 16]. Кристаллизацией упаренного гидролизата из эфира получили 1,62 г (50% на обе стадии) пентаацетата (VII), т. пл. 159—161°, [α]_D —34° (с 0,75; CHCl₃) (ср. [13]), ГЖХ: T_{сахароза} 1,61 (2% OV-1, 200—290° при 4°/мин).

2-Метил-[3,6-ди-О-ацетил-4-О-(2,3,4,6-тетра-О-ацетил-β-D-галактопиранозил)-1,2-дидезокси-α-D-глюкопирано][2',1':4,5]-2-оксазолин (XIII). 3,4 г гликозида (XI) [25, 26] гидрировали 24 ч над 5%-ным Pd/C в 50 мл MeOH в присутствии 0,5 мл CH₃COOH. Катализатор отфильтровывали, раствор упаривали досуха и получили хроматографически однородный гептаацетат (XII), ТСХ: R_(XI) 0,47 (эфир — MeOH, 15 : 1). Суспензию 1,94 г высушенного ацетата (XII) в 20 мл CH₃COSi насыщали сухим HCl при —10° и выдерживали 24 ч при 20° в плотно закрытой колбе. Раствор упаривали, остаток трижды отгоняли с толуолом, полученный хлорид (2,1 г) растворяли в 30 мл абс. CH₃CN и перемешивали 2 ч с 0,63 г AgNO₃ и 0,5 мл симм-коллидина. Смесь фильтровали, фильтрат упаривали досуха, остаток растворяли в бензоле и выдерживали на холоде. Кристаллы отделяли, промывали бензолом и фильтрат упаривали. Хроматографией остатка (1,9 г) на силикагеле (колонка 3 × 25 см) в системе бензол — ацетон (до 30% ацетона) с добавкой 0,1% триэтиламина выделяли 0,91 г (49%) аморфного оксазолина (XIII), [α]_D +12° (с 1; CHCl₃) (ср. [5,30]), ТСХ: R_f 0,60 (бензол — ацетон, 3 : 2), ИК-спектр: 1735 (OAc) и 1676 см⁻¹ (C=N).

Бензил-О-(2-ацетамидо-3,4,6-три-О-ацетил-2-дезокси-β-D-глюкопиранозил)-(1→6)-О-(2,3,4-три-О-ацетил-β-D-галактопиранозил)-(1→4)-2,3,6-три-О-ацетил-β-D-глюкопиранозид (VIII). Раствор 1,6 г диола (III) и 2,0 г 2-метил-(3,4,6-три-О-ацетил-1,2-дидезокси-α-D-глюкопирано)-[2',1':4,5]-2-оксазолина [22] в смеси 3 мл абс. толуола и 1 мл CH₃NO₂ кипятили 20 мин в присутствии *n*-толуолсульфокислоты (до pH 3—4 по увлажненной индикаторной бумажке). К охлажденному раствору добавляли 0,5 мл пиридина и смесь упаривали досуха. Остаток ацетилировали 5 мл Ac₂O в 10 мл пиридина и обрабатывали обычным образом. Смесь хроматографировали на силикагеле и продукт элюировали этилацетатом. Кристаллизацией из *изо*-PrOH выделяли 1,97 г (82%) соединения (VIII), т. пл. 152—155°, [α]_D —33° (с 0,49; CHCl₃), ТСХ: R_f 0,60 (этилацетат — бензол, 3 : 1), ИК-спектр: 1535 и 1680 см⁻¹ (амид I и амид II). Найдено, %: С 53,17; Н 5,00; N 1,48. C₄₅H₄₉N₂O₂₅. Вычислено, %: С 53,84; Н 4,92; N 1,40.

Бензил-О-(2-ацетамидо-2-дезокси-β-D-глюкопиранозил)-(1→6)-О-β-D-галактопиранозил-(1→4)-β-D-глюкопиранозид (IX). 0,20 г ацетата (VIII) обрабатывали 0,2 мл 1 М MeONa в 2 мл абс. MeOH. Через 20 ч смесь нейтрализовали катионитом КУ-2 (H⁺-форма) и фильтрат упаривали досуха. Получили 0,12 г (96%) хроматографически однородного аморфного продукта (IX), [α]_D —16° (с 0,35; вода), ГЖХ: T_{траффиноза} 2,00 (2% OV-1, 250—325° при 4°/мин). Метанолиз трисахарида (IX) дает соот-

ношение *D*-глюкоза — *D*-галактоза — *N*-ацетил-*D*-глюкозамин 1,0 : 1,05 : 1,13, определенное методом ГЖХ (3% SE-30, 150—250° при 4°/мин). При ферментативном гидролизе *N*-ацетил-β-*D*-глюкозаминидазой [24] в цитратном буфере (рН 4,5) при 37° трисахарид (IX) полностью расщепляется на *N*-ацетил-*D*-глюкозамин и бензил-β-лактозид (I) (ТСХ в системе СНCl₃ — этанол — вода, 5 : 5 : 1). При окислении соединения (IX) 0,01 М КЮ₄ поглощается 4 эквивалента периодата (определение спектрофотометрически при 310 нм) [34].

После гидрирования бензилгликозида (IX) в водном MeOH над 5%-ным Pd/C идентифицирован трисахарид (X), БХ: $R_{\text{лактоза}}$ 0,51.

Бензил-*O*-(2,3,4,6-тетра-*O*-ацетил-β-*D*-галактопиранозил)-(1→4)-*O*-(2-ацетида-3,6-ди-*O*-ацетил-2-дезоксид-β-*D*-глюкопиранозил)-(1→6)-*O*-(2,3,4-три-*O*-ацетил-β-*D*-галактопиранозил)-(1→4)-2,3,6-три-*O*-ацетил-β-*D*-глюкопиранозид (XIV). Смесь 0,70 г оксазолина (XIII) и 0,45 г диола (III) растворяли при нагревании в 20 мл абс. толуола, добавляли 20 мг *p*-толуолсульфокислоты в 1 мл толуола и кипятили 20 мин. Остаток после упаривания реакционной массы хроматографировали на силикагеле (колонка 3 × 30 см) в системе бензол — ацетон (до 30% ацетона) и фракцию, обогащенную продуктом с R_f 0,35 (ТСХ: бензол — ацетон, 3 : 2), ацетилировали Ac₂O в пиридине. Смесь обрабатывали обычным образом и повторно хроматографировали на силикагеле в указанной системе. Перекристаллизацией хроматографически однородного продукта из смеси СНCl₃ — эфир, а затем из *изо*-PrOH выделили 0,43 г (47%) защищенного тетрасахарида (XIV), т. пл. 132—133°, $[\alpha]_D$ —26° (*c* 1; СНCl₃). Найдено, %: С 52,24; Н 5,83; N 1,15. C₆₇H₇₅NO₃₃. Вычислено, %: С 52,57; Н 5,81; N 1,08.

Бензил-*O*-β-*D*-галактопиранозил-(1→4)-*O*-2-ацетида-2-дезоксид-β-*D*-глюкопиранозил-(1→6)-*O*-β-*D*-галактопиранозил-(1→4)-3-*D*-глюкопиранозид (XV). Раствор 0,40 г производного (XIV) в 30 мл 0,1 М метанольного MeONa выдерживали 1 ч при 20°. Выпавший продукт отфильтровывали и промывали MeOH. Фильтрат нейтрализовали катионитом КУ-2 (H⁺-форма) и упаривали досуха. Перекристаллизацией объединенного продукта из этанола выделили 0,24 г (85%) гликозида (XV), т. пл. 234—236°, $[\alpha]_D$ —40° (*c* 0,39; вода), ТСХ: R_f 0,45 (СНCl₃ — MeOH — вода, 5 : 4 : 1). Гликозид (XV) поглощает 5 эквивалентов периодата при окислении 0,01 М КЮ₄.

O-β-*D*-галактопиранозил-(1→4)-*O*-2-ацетида-2-дезоксид-β-*D*-глюкопиранозил-(1→6)-*O*-β-*D*-галактопиранозил-(1→4)-*D*-глюкоза (XVI). 0,21 г гликозида (XV) гидрировали, как описано выше. Кристаллизацией из смеси MeOH — этанол получили 0,17 г тетрасахарида (XVI), т. пл. 185—187°, $[\alpha]_D$ +8° (равновесное; *c* 1; вода), БХ: $R_{\text{лактоза}}$ 0,30. Метаноллиз (XVI) дает соотношение *D*-глюкоза — *D*-галактоза — *N*-ацетил-*D*-глюкозамин, близкое к 1 : 2 : 1 (по ГЖХ).

2 мг тетрасахарида (XVI) метилировали по Хакомори [35, 36]. Метилированный тетрасахарид (XVII) очищали хроматографией на силикагеле (СНCl₃ — ацетон, 3 : 1) и превращали в ацетаты полиолов, как описано в работе [29]. Методом ГЖХ-МС (1,5% OV-17, 9 мин при 180° и далее программа 4°/мин) идентифицированы (в скобках указаны времена удерживания относительно 1,5-ди-*O*-ацетил-2,3,4,6-тетра-*O*-метил-*D*-глюцита): 1,5-ди-*O*-ацетил-2,3,4,6-тетра-*O*-метил-*D*-галактит (1,11), 1,4,5-три-*O*-ацетил-2,3,6-три-*O*-метил-*D*-глюцит (1,71), 1,5,6-три-*O*-ацетил-2,3,4-три-*O*-метил-*D*-галактит (2,07) и 1,4,5-три-*O*-ацетил-2-дезоксид-3,6-ди-*O*-метил-2-*N*-метилацетида-*D*-глюцит (6,0).

МС соединения (XVII) (*m/e*, в скобках — относительная интенсивность, %): 902 (0,7), 901 (0,4), 871 (2,5), 802 (2,6), 754 (1), 742 (5,4), 698 (1,5), 684 (3,8), 668 (10), 464 (15), 432 (20), 423 (50), 328 (27), 289 (6), 279 (16), 274 (6), 246 (9), 228 (7), 219 (40), 196 (15), 187 (58), 182 (16), 155 (25), 115 (23), 111 (33), 101 (55), 88 (100).

O-β-*D*-Галактопиранозил-(1→4)-*O*-2-ацетамидо-2-дезоксид-β-*D*-глюкопиранозил-(1→3)-*O*-β-*D*-галактопиранозил-(1→4)-*D*-глюкоза (XVIII). Раствор 0,48 г оксазолина (XIII) и 0,25 г диола (VII) в 3 мл абс. толуола нагревали 18 ч при 50—60° в присутствии 5 мг *p*-толуолсульфокислоты, после чего прибавляли еще 0,24 г соединения (XIII) и нагревали 6 ч. Реакционную массу упаривали досуха, остаток дезацетилировали 0,1 М MeONa в MeOH и раствор деионизировали КУ-2 (H⁺-форма). Метанольный раствор гидрировали над 5%-ным Pd/C с добавкой 0,1 мл CH₃COOH. После отделения катализатора фильтрат упаривали и препаративной БХ выделяли 19 мг (7%) аморфного тетрасахарида (XVIII), БХ: *R*_{лактоза} 0,32. Метаноллиз соединения (XVIII) дает соотношение *D*-глюкоза — *D*-галактоза — *N*-ацетил-*D*-глюкозамин, близкое к 1 : 2 : 1 (по ГЖХ).

Тетрасахарид (XVIII) метилировали и продукт метилирования очищали, как описано для соединения (XVI). В результате ГЖХ-МС ацетатов полиолов, полученных из метилированного продукта (XVIII), идентифицированы *O*-ацетаты 2,3,4,6-тетра-*O*-метил-*D*-галактита, 2,4,6-три-*O*-метил-*D*-галактита в смеси с *O*-ацетатом 2,3,6-три-*O*-метил-*D*-глюцита или -*D*-галактита, а также *O*-ацетат 2-дезоксид-3,6-ди-*O*-метил-*N*-метилацетамидо-*D*-глюцита.

МС метилированного продукта (XVIII) (*m/e*, относительная интенсивность в %): 903 (1,6), 871 (4,3), 802 (2,7), 704 (4,6), 668 (22), 483 (1,4), 464 (62), 432 (56), 423 (47), 331 (38), 328 (35), 313 (13), 289 (10), 279 (30), 274 (10), 246 (15), 228 (10), 219 (97), 196 (40), 187 (60), 169 (35), 159 (63), 155 (47), 129 (95), 115 (45), 111 (75), 101 (100), 88 (80).

ЛИТЕРАТУРА

1. Зурабян С. Э., Хорлин А. Я. (1974) Успехи химии, 43, 1889—1903.
2. Kaifu R., Osawa T. (1975) Carbohydr. Res., 40, 111—117.
3. Lubineau A., Thieffry A., Veyrières A. (1976) Carbohydr. Res., 46, 143—148.
4. Augé C., Veyrières A. (1976) Carbohydr. Res., 46, 293—298.
5. Kaifu R., Osawa T. (1976) Carbohydr. Res., 52, 179—185.
6. Augé C., Veyrières A. (1977) J. Chem. Soc. Perkin Trans. I, 1343—1345.
7. Augé C., David S., Veyrières A. (1977) J. Chem. Soc. Chem. Commun., 449—450.
8. Зурабян С. Э., Пяменова В. В., Шашкова Е. А., Хорлин А. Я. (1971) Химия природн. соедин., 689—693.
9. Zurabyan S. E., Volosyuk T. P., Khorlin A. Ya. (1969) Carbohydr. Res., 9, 215—220.
10. Excoffier G., Gagnaire D., Utille J. P. (1972) Tetrahedron Lett., 5065—5068.
11. Matta K. L., Johnson E. A. (1973) Carbohydr. Res., 26, 215—218.
12. Matta K. L., Barlow J. J. (1977) Carbohydr. Res., 53, 209—216.
13. Acher A. J., Rabinsohn Y., Rachaman E. S., Shapiro D. (1970) J. Org. Chem., 35, 2436—2437.
14. Christensen J. E., Goodman L. (1968) Carbohydr. Res., 7, 510—512.
15. Flowers H. M. (1967) Carbohydr. Res., 4, 312—317.
16. Beith-Halahmi D., Flowers H. M., Shapiro D. (1967) Carbohydr. Res., 5, 25—30.
17. Дмитриев Б. А., Черняк А. Я., Байрамова Н. Э. (1975) Изв. АН СССР. Сер. хим., 142—148.
18. Augé C., Veyrières A. (1977) Carbohydr. Res., 54, 45—59.
19. Кочетков Н. К., Дмитриев Б. А., Чижов О. С., Климов Е. М., Малышева Н. Н., Торгов В. И., Черняк А. Я., Байрамова Н. Э. (1974) Изв. АН СССР. Сер. хим., 1386—1392.
20. Торгов В. И., Черняк А. Я. (1975) Изв. АН СССР. Сер. хим., 455—458.
21. Schneider J., Lee Y. C., Flowers H. M. (1974) Carbohydr. Res., 36, 159—166.
22. Хорлин А. Я., Шульман М. Л., Зурабян С. Э., Привалова И. М., Копаевич Ю. Л. (1968) Изв. АН СССР. Сер. хим., 2094—2098.
23. Lemieux R. U., Driguez H. (1975) J. Amer. Chem. Soc., 97, 4063—4069.
24. Виха Г. В., Каверзнева Е. Д., Шульман М. Л., Хорлин А. Я. (1972) Биохимия, 27, 322—328.
25. Зурабян С. Э., Лопанцева Е. Н., Хорлин А. Я. (1973) Докл. АН СССР, 210, 1216—1219.
26. Khorlin A. Ya., Nesmeyanov V. A., Zurabyan S. E. (1975) Carbohydr. Res., 43, 69—77.
27. Egge H., v. Nicolai H., Zilliken F. (1974) FEBS Lett., 39, 341—344.
28. Björndall H., Hellerquist C. G., Lindberg B., Svensson S. (1970) Angew. Chem. Internat. Ed., 9, 610—619.

29. Stellner K., Saito H., Nakomori S. (1973) Arch. Biochem. and Biophys., 155, 464—472.
30. Дмитриев Б. А., Книрель Ю. А., Кочетков Н. К. (1974) Изв. АН СССР. Сер. хим., 411—416.
31. Stoffel W., Hanfland P. (1973) Z. Physiol. Chem., 354, 21—31.
32. Свилей Ч. К., Тао Р. В. П. (1975) в сб. Методы исследования углеводов, с. 13—17, «Мир», М.
33. Richtmyer N. K. (1946) J. Amer. Chem. Soc., 68, 1136.
34. Marinetti G. V., Rouser G. (1955) J. Amer. Chem. Soc., 77, 5345—5349.
35. Nakomori S. (1964) J Biochem., 55, 205—208.
36. Sandford P. A., Conrad H. E. (1966) Biochemistry, 5, 1508—1517.

Поступила в редакцию
21.XI.1977
После доработки
25.I.1978

SYNTHESIS OF TRI- AND TETRASACCHARIDES, STRUCTURAL ISOMERS OF MILK OLIGOSACCHARIDES

ZURABYAN S. E., MARKIN V. A., PIMENOVA V. V., ROZYNOV B. V.,
САДОВСКАЯ V. L., KHORLIN A. Ya.

*M. M. Shemyakin Institute of Bioorganic Chemistry,
Academy of Sciences of the USSR, Moscow*

Structural isomers of milk oligosaccharides — O-2-acetamido-2-deoxy- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)-O- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-D-glucose, O- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-O-2-acetamido-2-deoxy- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)-O- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-D-glucose, and O- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-O-2-acetamido-2-deoxy- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-O- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-D-glucose, have been synthesized using oxazoline method of glycosylation.
