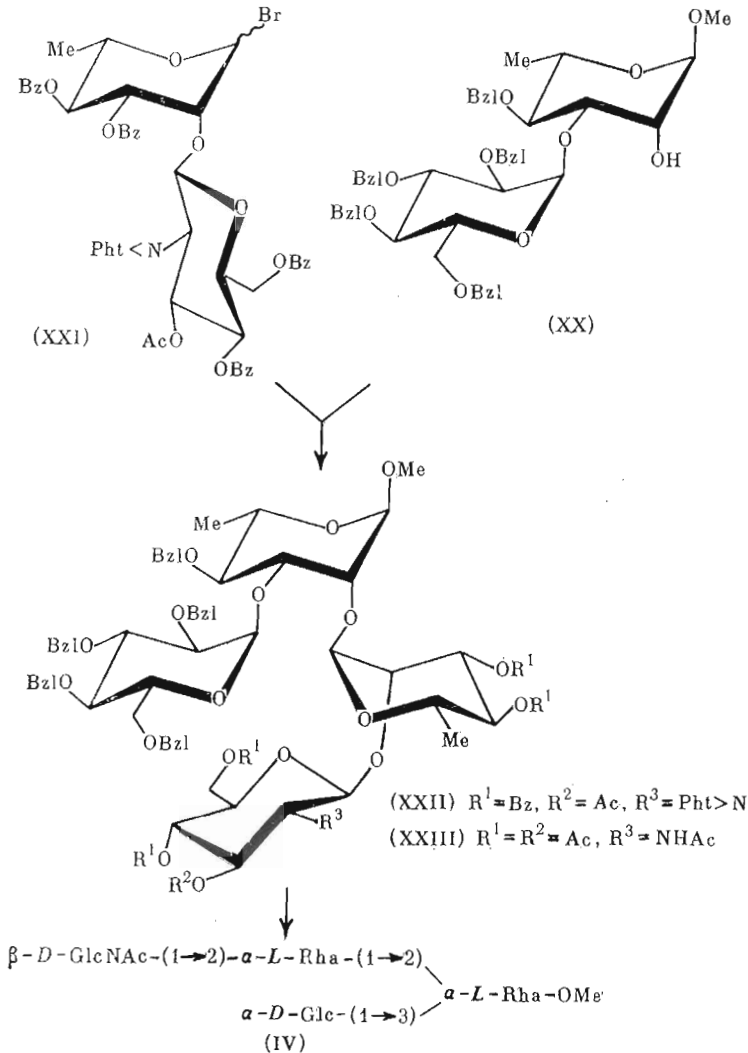


лотного метанолиза [6] привело к диолу (VIII) (94%). Реакция моноацетилирования, исследованная нами ранее на других производных рамнозы [1–3], содержащих 2,3-диольную группировку, привела в случае соединения (VIII), как и ожидалось, к преимущественному образованию (52%) 2'-O-ацетильного производного (X). Положение O-ацетильной группы в соединении (X) и в изомерном ацетате (IX) (выход 29%) было определено с помощью спектра <sup>1</sup>H-ЯМР: в случае ацетата (X) в слабом поле находится сигнал H-2' (δ 5,18 м.д., дд, J 1,5 и 3,5 Гц), а в случае (IX) — H-3' (δ 5,18 м.д., дд, J 3 и 9 Гц). Дополнительное подтверждение структур изомерных соединений (IX) и (X) было получено из их спектров <sup>13</sup>C-ЯМР: положения сигналов аномерных атомов углерода невозстанавливающих остатков составляют 101,7 и 101,8 м.д. для диола (VIII) и 3'-O-ацетата (IX), тогда как в случае диацетата (VII) и 2'-O-ацетата (X) вследствие β-эффекта ацетилирования этот сигнал смещен в сильное поле

Схема 2



( $\delta$  99,7 и 99,4 м.д.). Отнесение сигналов в этих и остальных случаях проводилось с использованием спектров родственных соединений [3].

Для введения остатка  $\alpha$ -глюкозы спирт (X) гликозилировали бромидом (X1) (2 моль-экв.) в присутствии  $\text{Hg}(\text{CN})_2$  в хлористом метиле. С выходом 90% была получена смесь трисахаридов (XII) и (XIII) с  $\alpha$ - и  $\beta$ -конfigurацией гликозидной связи в соотношении  $\sim 3:1$ , что следовало из данных спектра  $^{13}\text{C}$ -ЯМР. В аномерной области наряду с сигналом с  $\delta$  92,7 м.д., характерным для C-1  $\alpha$ -связанной глюкозы, присутствовал сигнал с  $\delta$  103,3 м.д., принадлежащий к C-1  $\beta$ -связанной глюкозы. Разделение аномеров удалось провести после мягкого кислотного метанолиза [6]; полученные продукты O-деацетилирования, соединения (XIV) и (XV), были выделены с выходами 68 и 21% соответственно. Их строение подтверждалось данными спектра  $^{13}\text{C}$ -ЯМР. Соединение (XIV) послужило исходным для синтеза тетрасахарида (III).

Дебензоилирование соединения (XIV) по Земплону и последующий гидрогенолиз над 10% Pd/C дали незащищенный трисахарид (II) с выходом 88%. Строение этого трисахарид вытекало из его спектра  $^{13}\text{C}$ -ЯМР. В частности,  $\alpha$ -конfigurация всех гликозидных связей подтверждалась величинами  $J_{\text{C,H}}$ , равными 170,2 Гц для сигналов всех аномерных атомов углерода ( $\delta$  102,1; 103,0; 96,9 м.д.). Данные спектра трисахарид (II) (табл. 1) находятся в полном соответствии со спектральными закономер-

Данные спектров  $^{13}\text{C}$ -ЯМР олигосахаридов (II) — (IV)

Соединение	Остаток	Химические сдвиги ( $\delta$ , м. д.) *						
		C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	OMe
Glc $\alpha$ 1-3Rha $\alpha$ 1-3Rha $\alpha$ -OMe (II)	-Rha	102,1	71,1 <sup>a</sup>	79,3	72,7	69,9	18,0 <sup>б</sup>	56,0
	-Rha-	103,0	68,2	77,1	71,7	70,4	17,9 <sup>б</sup>	
	Glc-	96,9	72,7	74,3	70,9 <sup>a</sup>	73,1	61,9	
Rha $\alpha$ 1-2(Glc $\alpha$ 1-3)Rha $\alpha$ 1-3Rha $\alpha$ -OMe (III)	-Rha	102,1	71,2	78,7	71,4	69,85 <sup>б</sup>	17,9 <sup>a</sup>	56,1
	-Rha-	102,1	75,0	76,2	71,4	70,5 <sup>б</sup>	17,9 <sup>в</sup>	
	Glc-	96,7	72,5	74,2	70,9	73,1 <sup>a</sup>	61,8	
	Rha-	103,0	70,85	71,4	73,4 <sup>a</sup>	70,55 <sup>б</sup>	18,1 <sup>в</sup>	
GlcNAc $\beta$ 1-2Rha $\alpha$ 1-2(Glc $\alpha$ 1-3)Rha $\alpha$ -OMe (IV) **	-Rha	100,8	75,0 <sup>a</sup>	75,9	71,7	69,7	17,8 <sup>б</sup>	56,1
	-Rha-	102,0	79,8	71,1	73,6	70,4	18,0 <sup>б</sup>	
	Glc-	95,9	72,4	74,3	70,8	72,9	61,7	
	GlcNAc-	103,6	57,1	74,0 <sup>a</sup>	71,3	77,05	62,1	

\* а, б, в — отнесение сигналов может быть изменено на обратное.

\*\* Сигналы атомов углерода ацетильной группы  $\delta$  23,5 и 173,9 м. д.

ностями, выявленными при исследовании 1→3-связанных дисахаридов с аксиальной ОН-группой при С-2 или С-4 агликона [7, 8].

В качестве гликозилирующего агента для синтеза производного тетрасахарида (XVIII) мы использовали ацетобромрамнозу (XVII). Этот гликозилбромид более доступен, чем применявшийся нами ранее 2,3-ди-О-ацетил-4-О-бензил-*L*-рамнозпиранозилбромид (V), однако он оказался менее реакционноспособным. Гликозирование трисахаридного производного (XIV) бромидом (XVII) (2 моль-экв.) проводили в присутствии трифлата серебра и 2,4,6-коллидина в хлористом метиле. Несмотря на ощутимое различие в подвижностях при ТСХ (система Б) тетрасахарида (XVIII) ( $R_f$  0,52) и исходного трисахарид (XIV) ( $R_f$  0,46), препаративное их разделение оказалось трудной задачей. Оно было осуществлено после дезацилирования по Земплену смеси, содержащей исходный трисахарид (XIV) и образовавшийся тетрасахарид (XVIII). Было выделено 34% дезацилированного производного тетрасахарида (XIX). Возврат дезацилированного трисахаридного производного (XVI) составил 35%. Качественно такую же картину гликозирования (ТСХ) мы наблюдали и при использовании тетраметилмочевины вместо 2,4,6-коллидина, однако реакция протекала очень медленно (3 сут). Использование других систем катализаторов и растворителей —  $Hg(CN)_2$ , ацетонитрил;  $Hg(CN)_2$ ,  $HgBr_2$ , ацетонитрил;  $Hg(CN)_2$ , хлористый метилен (реакционные компоненты и растворители высушивались на вакуумной установке) — практически не приводило к тетрасахарида (XVIII).

Гидрогенолизом бензилированного тетрасахаридного производного (XIX) был получен незащищенный тетрасахарид (III) (92%). Его спектр  $^{13}C$ -ЯМР был расшифрован с помощью тех же модельных соединений и спектральных закономерностей [7, 8], что и спектр трисахарид (II).  $\alpha$ -Конфигурация гликозидных связей всех моносахаридных остатков доказывалась величинами  $^1J_{C,H}$  (170,9; 170,9; 170,9; 168,5 Гц) аномерных атомов углерода ( $\delta$  102,1; 102,1; 103,0; 96,7 м.д.).

Синтез тетрасахарида (XXII) был осуществлен конденсацией двух дисахаридных производных, бромида (XXI) [9] и спирта (XX) [2] в условиях Гельфериха (схема 2). С выходом 50% было выделено тетрасахаридное производное (XXII). В аномерной области спектра  $^{13}C$ -ЯМР присутствовали четыре сигнала ( $\delta$  99,7; 99,6; 98,1; 94,6 м.д.,  $^1J_{C,H}$  172,0; 162,7; 172,0 и 170,1 Гц соответственно), что указывало на наличие одной  $\beta$ - и трех  $\alpha$ -гликозидных связей. Таким образом, гликозирование биозилбромидом (XXI) с гликозидным заместителем при О-2 остатка рамнозы протекало, как и в другом описанном случае [9], стереоизбирательно. Обработкой тетрасахарида (XXII) 99% гидразингидратом в кипящем спирте и последующим ацетилированием искусным ангидридом в пиридине получено с выходом 74% ацетамидное производное (XXIII).

Удаление защитных групп действием метилата натрия в метаноле с последующим гидрогенолизом бензильных групп над Pd/C с выходом 60% привело к целевому незащищенному тетрасахарида (IV), строение которого однозначно вытекало из его спектра  $^{13}C$ -ЯМР. В частности, сигналы с  $\delta$  100,8; 102,0; 95,9 и 103,6 м.д. принадлежали к аномерным атомам углерода остатков рамноз, глюкозы и глюкозамина соответственно; величины  $^1J_{C,H}$  указывали на  $\alpha$ -конфигурацию остатков рамноз (172,0; 172,0 Гц) и глюкозы (170,2 Гц) и  $\beta$ -конфигурацию глюкозамина (160,9 Гц).

Иммунохимическое исследование синтезированных в данной работе олигосахаридов (II)–(IV), а также описанных ранее [1] тетрасахарида  $Glc\alpha 1-3Rha\alpha 1-2(Glc\alpha 1-3)Rha\alpha-OMe$  (XXIV) и пентасахарид  $GlcNAc\beta 1-2(Glc\alpha 1-3)Rha\alpha 1-2(Glc\alpha 1-3)Rha\alpha-OMe$  (XXV) было проведено как описано в работе [5]. Как видно из табл. 2 и из данных работы [5], специфическими ингибиторами в системе О-фактор V — анти-V являются только олигосахариды (II) и (III); они не ингибировали систему О-фактор 7,8 — анти-7,8 даже при концентрациях, в 8–10 раз более высоких. Тетрасахариды (IV) и (XXIV) оказались слабыми и неспецифическими ингибиторами. Что же касается пентасахарид (XXV), то он проявил хотя и высокую, но неспецифическую ингибирующую активность.

Ингибирующая активность (*I*) олигосахаридных фрагментов полисахаридов *Sh. flexneri*

Соединение	<i>I</i> * в системе с сывороткой	
	анти-7,8	анти-V
Glc $\alpha$ 1-3Rha $\alpha$ 1-3Rha $\alpha$ -OMe (II)	—	10
Rha $\alpha$ 1-2(Glc $\alpha$ 1-3) Rha $\alpha$ 1-3Rha $\alpha$ -OMe (III)	—	22
GlcNAc $\beta$ 1-2Rha $\alpha$ 1-2(Glc $\alpha$ 1-3) Rha $\alpha$ -OMe (IV)	30	60
Glc $\alpha$ 1-3Rha $\alpha$ 1-2(Glc $\alpha$ 1-3) Rha $\alpha$ -OMe (XXIV)	47	47
GlcNAc $\beta$ 1-2(Glc $\alpha$ 1-3) Rha $\alpha$ 1-2(Glc $\alpha$ 1-3) Rha $\alpha$ -OMe (XXV)	20	10

\* Минимальная доза ингибитора (в мкг), нейтрализующая взаимодействие в иммунной системе «эритроциты, покрытые липополисахаридом (V; 7,8) — антисыворотка» [5].

Таким образом, можно заключить, что минимальным структурным фрагментом O-антигенных полисахаридов *Sh. flexneri*, ответственным за специфическое проявление O-фактора V, является трисахарид Glc $\alpha$ 1-3-Rha $\alpha$ 1-3Rha $\alpha$ -OMe.

## Экспериментальная часть

Оптическое вращение измеряли на поляриметре Perkin — Elmer 141 (США) в хлороформе при  $20 \pm 2^\circ \text{C}$ . Спектры ЯМР снимали на приборе Bruker WM-250 и Bruker WM-300 (ФРГ), растворители для съемки спектров — дейтерохлороформ (внутренний стандарт — тетраметилсилан) и D<sub>2</sub>O. ТСХ проводили на пластинках с силикагелем L5/40 мкм (ЧССР) в системе растворителей бензол — эфир, 3:2 (А), бензол — эфир, 4:1 (Б), бензол — этилацетат, 4:1 (В), метанол — хлороформ, 1:1 (Г). Колоночную хроматографию осуществляли на силикагеле L40/100 мкм (ЧССР). Бензильные группы удаляли гидрогенолизом над 10% Pd/C при  $38^\circ \text{C}$ .

Хлористый метилен промывали конц. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, затем водой, насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub>, сушили CaCl<sub>2</sub>, перегоняли над CaH<sub>2</sub>. Ацетонитрил перегоняли над P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Цианид ртути (II) — фирмы Merck (ФРГ), бромид ртути (II) готовили по методике [10], трифлат серебра AgOSO<sub>2</sub>CF<sub>3</sub> — по [11]. Серологические испытания проводили как описано в работе [5].

Метил-3-O-(2,3-ди-O-ацетил-4-O-бензил- $\alpha$ -L-рамнопиранозил)-4-O-бензил-2-O-бензоил- $\alpha$ -L-рамнопиранозид (VII). К раствору 0,48 г (1,3 ммоль) монобензоата (VI) [2] в 5 мл ацетонитрила добавляли 1,0 г (4 ммоль) Hg(CN)<sub>2</sub>, молекулярные сита 3 Å и перемешивали 15–20 мин. К смеси по каплям добавляли раствор бромида (V) (полученного, как описано в работе [12], из 1,4 г (3,7 ммоль) 1,2,3-три-O-ацетил-4-O-бензил-L-рамнопиранозы [3]) в 20 мл ацетонитрила. Через 15 мин после добавления бромида реакционную смесь разбавляли хлороформом (50 мл) и промывали раствором KI (2×25 мл) и водой (25 мл). Органический слой отделяли, упаривали, остаток хроматографировали (бензол — эфир, 95:5). Выход дисахарида (VII) 0,83 г (92%), сирои, *R<sub>f</sub>* 0,57 (А), [ $\alpha$ ]<sub>D</sub> -14° (*c* 1,6). <sup>1</sup>H-ЯМР ( $\delta$ , м.д.): 1,18; 1,38 (2д, 2×3H, *J* 6 Гц, H-6,6'), 1,91; 2,08 (2с, 2×3H, CH<sub>3</sub>CO), 3,36 (с, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,44 (т, 1H, *J* 9 Гц, H-4'), 3,61 (т, 1H, *J* 9 Гц, H-4), 3,72–3,92 (м, 2H, H-5,5'), 4,24 (дд, 1H, *J* 3,5 и 9 Гц, H-3), 4,79 (д, 1H, *J* 2 Гц, H-1), 5,00 (д, 1H, *J* 2 Гц, H-1'), 5,29 (дд, 1H, *J* 3,5 и 9,5 Гц, H-3'), 5,37 (дд, 2H, *J* 2 и 3,5 Гц, H-2,2'). <sup>13</sup>C-ЯМР ( $\delta$ , м.д.): 98,2 (C-1), 99,7 (C-1'), 72,9 (C-2), 70,6 (C-2'), 80,1 (C-3), 71,2 (C-3'), 78,5; 78,8 (2C, C-4,4'), 67,7 (C-5), 68,5 (C-5'), 17,75; 18,2 (2C, C-6,6'), 54,9 (OCH<sub>3</sub>), 20,7 (2 CCH<sub>3</sub>CO), 169,7; 169,6 (2CH<sub>3</sub>CO), 166,1 (PhCO), 73,7; 75,6 (2CCH<sub>2</sub>Ph).

Метил-4-O-бензил-2-O-бензоил-3-O-(4-O-бензил- $\alpha$ -L-рамнопиранозил)- $\alpha$ -L-рамнопиранозид (VIII). К раствору 0,23 г (0,33 ммоль) диацетата (VII) в 2 мл хлороформа и 8 мл метанола при перемешивании добавляли 0,6 мл хлористого ацетила и через 6 ч твердый NaHCO<sub>3</sub> до полной нейтрализации кислоты, разбавляли 50 мл хлороформа и промывали водой (2×25 мл). Органический слой отделяли, упаривали и остаток хромато-

графировали (бензол — эфир, 95 : 5, → бензол — эфир, 70 : 30). Выход диола (VIII) 0,19 г (94%), сироп,  $R_f$  0,24 (А),  $[\alpha]_D +13^\circ$  (с 1,1).  $^1\text{H-ЯМР}$  ( $\delta$ , м.д.): 1,20; 1,36 (2д,  $2\times 3\text{H}$ ,  $J$  6 Гц, Н-6,6'), 3,28 (т, 1Н,  $J$  9 Гц, Н-4'), 3,36 (с, 3Н,  $\text{OCH}_3$ ), 3,59 (т, 1Н,  $J$  9 Гц, Н-4), 3,70—3,90 (м, 4Н, Н-2', 3', 5, 5'), 4,20 (дд, 1Н,  $J$  3,5 и 9 Гц, Н-3), 4,76 (д, 1Н,  $J$  2 Гц, Н-1), 5,05 (д, 1Н,  $J$  1,5 Гц, Н-1'), 5,39 (дд, 1Н,  $J$  2 и 3,5 Гц, Н-2).  $^{13}\text{C-ЯМР}$  ( $\delta$ , м.д.): 98,1 (С-1), 101,7 (С-1'), 72,9 (С-2), 70,8; 71,3 (2С, С-2', 3'), 80,4 (С-3), 77,7 (С-4), 81,1 (С-4'), 67,6 (С-5), 67,9 (С-5'), 17,7; 18,0 (2С, С-6,6'), 54,8 ( $\text{OCH}_3$ ), 165,9 ( $\text{PhCO}$ ), 73,8; 75,3 ( $2\text{C}_6\text{H}_5$ ). Найдено, %: С 67,00; Н 6,97.  $\text{C}_{31}\text{H}_{40}\text{O}_{10}$ . Вычислено, %: С 67,09; Н 6,62.

*Моноацетилирование метил-4-О-бензил-2-О-бензоил-3-О-(4-О-бензил- $\alpha$ -L-рамнопиранозил)- $\alpha$ -L-рамнопиранозид.* К раствору 0,54 г (0,89 ммоль) диола (VIII) в 5 мл хлористого метилена и 1 мл пиридина добавляли по каплям в течение 5—7 мин при 0° С раствор 0,1 мл (1,4 ммоль) хлористого ацетила в 5 мл хлористого метилена. Через 20 мин после добавления раствор упаривали. Колоночной хроматографией (бензол → бензол — эфир, 7 : 3) выделили 60 мг (11%) исходного диола (VIII), 40 мг (6,5%) диацетата (VII) и соединения (IX) и (X).

*Метил-3-О-(3-О-ацетил-4-О-бензил- $\alpha$ -L-рамнопиранозил) - 4-О-бензил-2-О-бензоил- $\alpha$ -L-рамнопиранозид (IX).* Выход 0,17 г (29%), сироп,  $R_f$  0,34 (А),  $[\alpha]_D -3,5^\circ$  (с 1,4).  $^1\text{H-ЯМР}$  ( $\delta$ , м.д.): 1,14; 1,36 (2д,  $2\times 3\text{H}$ ,  $J$  6 Гц, Н-6,6'), 1,98 (с, 3Н,  $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 3,36 (с, 3Н,  $\text{OCH}_3$ ), 3,46 (т, 1Н,  $J$  9 Гц, Н-4'), 3,61 (т, 1Н,  $J$  9 Гц, Н-4), 3,72—3,88 (м, 2Н, Н-5,5'), 4,04 (уширенный т, 1Н, Н-2'), 4,20 (дд, 1Н,  $J$  3,5 и 9 Гц, Н-3), 4,79 (д, 1Н,  $J$  2 Гц, Н-1), 4,98 (д, 1Н,  $J$  2 Гц, Н-1'), 5,18 (дд, 1Н,  $J$  3 и 9 Гц, Н-3'), 5,39 (дд, 1Н,  $J$  2 и 3,5 Гц, Н-2).  $^{13}\text{C-ЯМР}$  ( $\delta$ , м.д.): 98,0 (С-1), 101,8 (С-1'), 72,8 (С-2), 69,8 (С-2'), 80,0 (С-3), 73,5 (С-3'), 78,9; 79,1 (2С, С-4,4'), 67,5 (С-5), 68,9 (С-5'), 17,8; 18,1 (2С, С-6,6'), 54,9 ( $\text{OCH}_3$ ), 21,0 ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{CO}$ ), 73,8; 75,5 ( $2\text{C}_6\text{H}_5$ ), 169,9 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 166,0 ( $\text{PhCO}$ ). Найдено, %: С 66,49; Н 6,55.  $\text{C}_{36}\text{H}_{42}\text{O}_{11}$ . Вычислено, %: С 66,44; Н 6,51.

*Метил - 3-О-(2-О-ацетил-4-О-бензил- $\alpha$ -L-рамнопиранозил)-4-О-бензил-2-О-бензоил- $\alpha$ -L-рамнопиранозид (X).* Выход 0,3 г (52%), сироп,  $R_f$  0,52 (А),  $[\alpha]_D 0\div +1^\circ$  (с 1,4).  $^1\text{H-ЯМР}$  ( $\delta$ , м.д.): 1,21; 1,35 (2д,  $2\times 3\text{H}$ ,  $J$  6 Гц, Н-6,6'), 2,05 (с, 3Н,  $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 3,29 (т, 1Н,  $J$  9 Гц, Н-4'), 3,34 (с, 3Н,  $\text{OCH}_3$ ), 3,60 (т, 1Н,  $J$  9 Гц, Н-4), 3,71—3,86 (м, 2Н, Н-5,5'), 3,97 (уширенный д, 1Н, Н-3'), 4,21 (дд, 1Н,  $J$  3,5 и 9 Гц, Н-3), 4,75 (д, 1Н,  $J$  2 Гц, Н-1), 5,05 (д, 1Н,  $J$  1,5 Гц, Н-1'), 5,18 (дд, 1Н,  $J$  1,5 и 3,5 Гц, Н-2'), 5,36 (дд, 1Н,  $J$  2 и 3 Гц, Н-2).  $^{13}\text{C-ЯМР}$  ( $\delta$ , м.д.): 98,1 (С-1), 99,4 (С-1'), 72,6; 72,7 (2С, С-2,2'), 80,5 (С-3), 69,5 (С-3'), 77,8 (С-4), 81,1 (С-4'), 67,9 (С-5), 68,1 (С-5'), 17,7; 18,0 (2С, С-6,6'), 54,8 ( $\text{OCH}_3$ ), 20,7 ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{CO}$ ), 73,8; 75,3 ( $2\text{C}_6\text{H}_5$ ), 165,8 ( $\text{PhCO}$ ), 170,4 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ). Найдено, %: С 66,35; Н 6,40.  $\text{C}_{36}\text{H}_{42}\text{O}_{11}$ . Вычислено, %: С 66,44; Н 6,51.

*Метил-4-О-бензил-2-О-бензоил-3-О-[4-О-бензил-3-О-(2,3,4,6-тетра - О - бензил- $\alpha$  (и  $\beta$ )-D-глюкопиранозил)- $\alpha$ -L-рамнопиранозил]- $\alpha$ -L-рамнопиранозиды (XIV) и (XV).* Глюкозилирование 1,25 г (1,9 ммоль) соединения (X) проводили как описано в работе [3]. Глюкозилбромид (XI) готовили из 2,8 г (4 ммоль) 2,3,4,6-тетра-О-бензил-1-О-*n*-нитробензоил- $\alpha$ -D-глюкопиранозы [13] как описано [2]. Колоночной хроматографией (бензол → бензол — эфир, 94 : 6) было выделено 2,0 г (90%) смеси трисахаридов (XII) и (XIII). К раствору 0,35 г (0,3 ммоль) этой смеси в 1 мл хлороформа и 5 мл метанола при перемешивании добавляли 0,6 мл хлористого ацетила. Через 24 ч добавляли еще 3 мл метанола и 0,4 мл хлористого ацетила. Еще через 24 ч реакционную смесь обрабатывали как описано при синтезе дисахаридного производного (VIII). Колоночной хроматографией (бензол → бензол — эфир, 94:6) выделили трисахаридные производные (XIV) и (XV). *Соединение (XIV).* Выход 0,23 г (68%), сироп,  $R_f$  0,46 (Б),  $[\alpha]_D +45^\circ$  (с 1,2).  $^{13}\text{C-ЯМР}$  ( $\delta$ , м.д.): 98,2 (С-1), 101,7 (С-1'), 94,1 (С-1'')\*, 73,1 (С-2), 68,0 (С-2'), 79,1 (С-2''), 80,4 (С-3), 79,0 (С-3'), 82,2 (С-3''),

\* Здесь и далее двумя штрихами обозначены атомы углерода (и водорода) остатка D-глюкопиранозы.

77,8 (C-4''), 67,6; 67,9 (2C, C-5,5'), 70,7 (C-5''), 17,7; 18,1 (2C, C-6,6'), 67,9 (C-6''), 54,9 (OCH<sub>3</sub>), 78,2; 76,5; 75,4; 75,3; 74,7; 74,4; 74,1; 73,3 (8C, 6CH<sub>2</sub>Ph, C-4,4'). Найдено, %: C 72,25; H 6,75. C<sub>68</sub>H<sub>74</sub>O<sub>15</sub>. Вычислено, %: C 72,19; H 6,59. Соединение (XV). Выход 70 мг (21%), сироп, R<sub>f</sub> 0,40 (Б), [α]<sub>D</sub> +10° (с 1,0). <sup>13</sup>C-ЯМР (δ, м.д.): 98,1 (C-1), 101,9 (C-1'), 102,7 (C-1''), 17,8; 18,05 (2C, C-6,6'), 54,9 (OCH<sub>3</sub>), 165,8 (PhCO). Найдено, %: C 71,96; H 6,99. C<sub>68</sub>H<sub>74</sub>O<sub>15</sub>. Вычислено, %: C 72,19; H 6,59.

*Метил-3-O-[3-O-(α-D-глокопиранозил)-α-L-рамнопиранозил]-α-L-рамнопиранозид (II)*. К раствору 0,24 г (0,21 ммоль) трисахаридного производного (XIV) в 2 мл пиридина и 1 мл хлористого метилена добавляли 0,3 мл 0,1 н. MeONa. Через 1 ч раствор упаривали, остаток хроматографировали (бензол — эфир, 95 : 5 → бензол — эфир, 75 : 25). Выделенный продукт растворяли в 10 мл метанола и подвергали гидрогенолизу. Через 2 ч реакционную смесь фильтровали, осадок на фильтре промывали метанолом, объединенные фильтраты упаривали. Выход трисахарид (II) 90 мг (88%), аморфный порошок, R<sub>f</sub> 0,52 (Г), [α]<sub>D</sub> +15° (с 1,1; MeOH). <sup>1</sup>H-ЯМР (δ, м.д.): 4,70 (с, 1H, H-1), 5,11 (д, 1H, J 2 Гц, H-1'), 5,13 (д, 1H, J 3,5 Гц, H-1''), 3,42 (с, 3H, OCH<sub>3</sub>), 1,34 (д, 6H, J 6 Гц, H-6,6'). Данные спектра <sup>13</sup>C-ЯМР см. в табл. 1.

*Метил-4-O-бензил-3-O-[4-O-бензил-3-O-(2,3,4,6-тетра-O-бензил-α-D-глокопиранозил)-2-O-(α-L-рамнопиранозил)-α-L-рамнопиранозил]-α-L-рамнопиранозид (XIX)*. К раствору 0,4 г (0,35 ммоль) трисахаридного производного (XIV) в 3 мл хлористого метилена добавляли 0,19 г (0,7 ммоль) AgOSO<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, 0,09 мл (0,7 ммоль) 2,4,6-коллидина, молекулярные сита 4 Å и перемешивали 15 мин при -30 ÷ -20°С. Затем по каплям в течение 1 ч прибавляли раствор бромида (XVII), приготовленного из 0,23 г (0,7 ммоль) тетраацетата рамнозы, в 15 мл хлористого метилена. Через 0,5 ч после добавления бромида охлаждение снимали и перемешивали 24 ч при 20°С. Реакционную смесь разбавляли хлороформом (50 мл) и фильтровали. Фильтрат промывали водой (3×25 мл), органический слой отделяли и упаривали. Для аналитических целей было выделено небольшое количество тетрасахаридного производного (XVIII) (колоночная хроматография в системе гептан — этилацетат, 7 : 3). R<sub>f</sub> 0,56 (гептан — этилацетат, 1 : 1), 0,52 (Б), [α]<sub>D</sub> +5,3° (с 0,9). <sup>13</sup>C-ЯМР (δ, м.д.): 98,1; 98,4 (2C, C-1,1'), 95,5 (C-1''), 101,5 (C-1'''), 17,6; 17,8; 18,1 (3C, C-6,6', 6'''), 55,0 (OCH<sub>3</sub>), 20,6; 20,7; 20,8 (3CH<sub>3</sub>CO), 170,1; 169,8; 169,55 (3CH<sub>2</sub>CO), 166,0 (PhCO). Смесь продуктов реакции обрабатывали MeONa в метаноле и после хроматографии выделяли 0,14 г (34%) производного тетрасахарид (XIX) с R<sub>f</sub> 0,16 (бензол — этилацетат, 1 : 1) и [α]<sub>D</sub> +3° (с 1,2) и 0,12 г (35%) соединения (XVI) с R<sub>f</sub> 0,71 (бензол — этилацетат, 1 : 1).

*Метил-3-O-[3-O-(α-D-глокопиранозил)-2-O-(α-L-рамнопиранозил)-α-L-рамнопиранозил]-α-L-рамнопиранозид (III)*. Гидрогенолиз 0,14 г (0,12 ммоль) производного тетрасахарид (XIX) проводили в 10 мл метанола в течение 4 ч. Катализатор отфильтровывали, осадок несколько раз промывали метанолом. Объединенные фильтраты упаривали, остаток хроматографировали (хлороформ — метанол, 95 : 5 → хлороформ — метанол, 6 : 4). Водный раствор продукта фильтровали через мембранный фильтр (размер пор 0,45 мкм) и упаривали. Выход тетрасахарид (III) 70 мг (92%), аморфный порошок, R<sub>f</sub> 0,5 (Г), [α]<sub>D</sub> -11° (с 1,2, метанол), -5° (с 0,8, вода). <sup>1</sup>H-ЯМР (δ, м.д.): 4,67 (д, 1H, J 2 Гц, H-1), 5,11 (д, 1H, J 1,5 Гц, H-1'), 5,09 (д, 1H, J 3,5 Гц, H-1''), 5,20 (д, 1H, J 2 Гц, H-1'''), 1,31; 1,28; 1,25 (3д, 3×3H, J 6 Гц, H-6,6', 6'''). Данные спектра <sup>13</sup>C-ЯМР см. в табл. 1.

*Метил-2-O-[2-O-(3-O-ацетил-4,6-ди-O-бензоил-2-дезоксид-2-фталимидо-β-D-глокопиранозил)-3,4-ди-O-бензоил-α-L-рамнопиранозил]-4-O-бензил-3-O-(2,3,4,6-тетра-O-бензил-α-D-глокопиранозил)-α-L-рамнопиранозид (XXI)*. Смесь 0,36 г (0,46 ммоль) дисахаридного производного (XX) [2], 0,25 г (1 ммоль) Hg(CN)<sub>2</sub> и 0,18 г (0,5 ммоль) HgBr<sub>2</sub> высушивали 10—12 ч при 4·10<sup>-3</sup> мм рт. ст. (вакуумная установка [14]). К ней добавляли при перемешивании раствор бромида (XXI) [9], полученного из 0,95 г



(1 ммоль) 1-О-ацетил-2-О-(3-О-ацетил-4,6-ди-О-бензоил-2-дезоксид-2-фтал-имидо-β-D-глюкопиранозил)-3,4-ди-О-бензоил-α-L-рамнопиранозы, в 10 мл ацетонитрила. Предварительно бензольный раствор бромида (XXI) был лиофилизирован и бромид высушен при  $4 \cdot 10^{-3}$  мм рт. ст. в течение 1–2 ч; ацетонитрил дважды перегнан над СаН<sub>2</sub> в вакуумной установке; реагенты смешивали в атмосфере аргона. Через 1 ч реакцию смесь разбавляли хлороформом (100 мл), промывали раствором КВг (2×50 мл), водой (50 мл). Органический слой отделяли, упаривали, остаток хроматографировали (бензол → бензол – этилацетат, 93:7). Выход тетрасахарида (XXII) 0,39 г (50%), сироп, *R<sub>f</sub>* 0,51 (В),  $[\alpha]_D^{25} +55^\circ$  (*c* 1,1). <sup>13</sup>С-ЯМР (δ, м.д.): 99,7 (С-1), 98,1 (С-1'), 94,6 (С-1''), 99,6 (С-1'''), 17,5; 18,3 (2С, С-6,6'), 55,1 (С-2'''), 62,4 (С-6'''), 67,3; 68,4 (2С, С-5,5'), 68,7 (С-6''), 54,9 (ОСН<sub>3</sub>), 20,2 (СН<sub>3</sub>СО), 169,8 (СН<sub>3</sub>СО), 167,5; 166,0; 165,8; 165,1; 165,0 (СО).

*Метил-2-О-[2-О-(2-ацетиамидо-3,4,6-три-О-ацетил-2-дезоксид-β-D-глюкопиранозил)-3,4-ди-О-ацетил-α-L-рамнопиранозил]-4-О-бензил-3-О-(2,3,4,6-тетра-О-бензил-α-D-глюкопиранозил)-α-L-рамнопиранозид (XXIII)*. К раствору 0,3 г (0,18 ммоль) производного (XXII) в 20 мл этанола добавляли 1 мл 99% гидразингидрата и кипятили 8 ч. Раствор упаривали, упаривали с бутанолом, остаток растворяли в 15 мл пиридина и добавляли 1,0 мл уксусного ангидрида. Через 72 ч раствор упаривали, остаток растворяли в хлороформе (50 мл), промывали 2 н. НСl, водой, раствором NaHCO<sub>3</sub> и водой (по 25 мл). Органический слой отделяли, упаривали, остаток хроматографировали (бензол – этилацетат, 9:1, → бензол – этилацетат, 3:2). Выход тетрасахаридного производного (XXIII) 0,18 г (74%), сироп, *R<sub>f</sub>* 0,13 (В),  $[\alpha]_D^{25} +1,4-1,7^\circ$  (*c* 1,4). <sup>13</sup>С-ЯМР (δ, м.д.): 99,7 (2С, С-1,1'), 94,4 (С-1''), 100,2 (С-1'''), 55,8 (С-2'''), 70,7 (С-5''), 67,0; 68,4 (2С, С-5,5'), 17,4; 18,2 (2С, С-6,6'), 62,1 (С-6'''), 68,8 (С-6''), 54,9 (ОСН<sub>3</sub>), 20,6; 20,7; 20,9 (СН<sub>3</sub>СО), 23,2 (NCOСН<sub>3</sub>), 170,5; 170,3; 170,05; 169,9; 169,3 (СН<sub>3</sub>СО).

*Метил-2-О-[2-О-(2-ацетиамидо-2-дезоксид-β-D-глюкопиранозил)-α-L-рамнопиранозил]-3-О-(α-D-глюкопиранозил)-α-L-рамнопиранозид (IV)*. К раствору 0,1 г (0,07 ммоль) защищенного тетрасахарида (XXIII) в 1 мл пиридина добавляли 0,1 мл 0,1 н. MeONa в метаноле. Через 10 мин раствор упаривали, остаток хроматографировали. Выделенный продукт растворяли в 6 мл метанола и гидрировали 5 ч при 38° С. Выход незащищенного тетрасахарида (IV) 30 мг (60%), аморфный порошок, *R<sub>f</sub>* 0,35 (Г),  $[\alpha]_D^{25} +31^\circ$  (*c* 1,0, MeOH),  $+33^\circ$  (*c* 0,7, вода). <sup>1</sup>H-ЯМР (δ, м.д.): 4,86 (д, 1H, *J* 2 Гц, H-1), 5,19 (д, 1H, *J* 2 Гц, H-1'), 5,12 (д, 1H, *J* 4 Гц, H-1''), 4,78 (д, 1H, *J* 8 Гц, H-1'''), 1,33; 1,38 (2д, 2×3H, *J* 6 Гц, H-6,6'), 2,04 (*c*, 3H, СН<sub>3</sub>СО). Данные спектра <sup>13</sup>С-ЯМР см. в табл. 1.

Авторы благодарны А. С. Шашкову за съемку спектров ЯМР.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Бакиновский Л. В., Гомцяи А. Р., Байрамова Н. Э., Кочетков Н. К. Биоорган. химия, 1985, т. 11, № 5, с. 655–661.
2. Бакиновский Л. В., Гомцяи А. Р., Байрамова Н. Э., Кочетков Н. К. Биоорган. химия, 1984, т. 10, № 1, с. 79–87.
3. Бакиновский Л. В., Гомцяи А. Р., Байрамова Н. Э., Кочетков Н. К. Биоорган. химия, 1985, т. 11, № 2, с. 254–263.
4. Kenne L., Lindberg B., Petersson K., Katzenellenbogen E., Romanowska E. Eur. J. Biochem., 1977, v. 76, № 2, p. 327–330.
5. Янкина Н. Ф., Гомцяи А. Р., Бакиновский Л. В. Биоорган. химия, 1984, т. 10, № 10, с. 1421–1422.
6. Vyramova N. E., Ovchinnikov M. V., Baskinowsky L. V., Kochetkov N. K. Carbohydr. Res., 1983, v. 124, № 1, p. C8–C11.
7. Kochetkov N. K., Chizhov O. S., Shashkov A. S. Carbohydr. Res., 1984, v. 133, № 2, p. 173–185.
8. Pozsgay V., Nanasi P., Neszmelyi A. Carbohydr. Res., 1981, v. 90, № 2, p. 215–231.
9. Vyramova N. E., Tsvetkov Yu. E., Baskinowsky L. V., Kochetkov N. K. Carbohydr. Res., 1985, v. 137, p. C8–C13.
10. Карякин Ю. В., Ангелов И. И. Чистые химические реактивы. М.: Госхимиздат, 1955, с. 456–457.
11. Russel D. G., Senior J. B. Canad. J. Chem., 1980, v. 58, № 1, p. 22–29.

12. Овчинников М. В., Байрамова Н. Э., Бакиновский Л. В., Кочетков Н. К. Биоорганич. химия, 1983, т. 9, № 3, с. 391—400.
13. Глаудеманс Ч. П. Д., Флетчер Х. Г. В кн.: Методы исследования углеводов. М.: Мир, 1975, с. 286.
14. Бочков А. Ф., Обручников И. В., Кочетков Н. К. Журн. общ. химии, 1974, т. 44, № 5, с. 1197—1203.

Поступила в редакцию  
6.V.1985

**SYNTHESIS OF OLIGOSACCHARIDE FRAGMENTS OF *SHIGELLA FLEXNERI* O-SPECIFIC POLYSACCHARIDES. IV. THE SYNTHESIS OF THE TRISACCHARIDE**

**Glc $\alpha$ 1-3Rha $\alpha$ 1-3Rha $\alpha$ -OMe AND TETRASACCHARIDES Rha $\alpha$ 1-2(Glc $\alpha$ 1-3) Rha $\alpha$ 1-3Rha $\alpha$ -OMe AND GlcNAc $\beta$ 1-2Rha $\alpha$ 1-2(Glc $\alpha$ 1-3) Rha $\alpha$ -OMe. LOCALIZATION OF THE O-FACTOR V**

BACKINOWSKY L. V., GOMTSYAN A. R., BYRAMOVA N. E., KOCHETKOV N. K.,  
YANKINA N. F.\*

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

*\* I. I. Mechnikov Institute of Vaccines and Sera, Moscow*

Methyl glycosides of the title linear trisaccharide and branched tetrasaccharides are synthesized. These oligosaccharides represent the structural fragments of the repeating units of the *Shigella flexneri* O-antigens of serotypes 5a and 5b. The trisaccharide Glc $\alpha$ 1-3Rha $\alpha$ 1-3Rha $\alpha$ -OMe possesses high activity in V: 7,8 — anti-V immune system in passive haemagglutination reaction.