



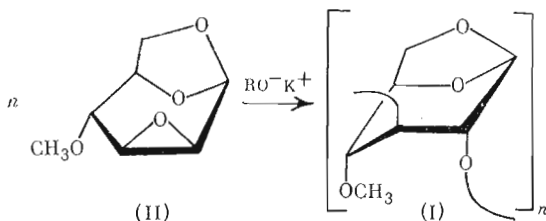
УДК 547.455.623:542.952

РЕГИО- И СТЕРЕОСПЕЦИФИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ ПОЛИГЛЮКОЗЫ  
С НОВЫМ ТИПОМ СВЯЗИ*Берман Е. Л., Горковенко А. А., Зубов В. П. \*,  
Пономаренко В. А.**Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского  
Академии наук СССР, Москва;**\*Институт биоорганической химии им. М. М. Шеллякина Академии наук СССР,  
Москва*

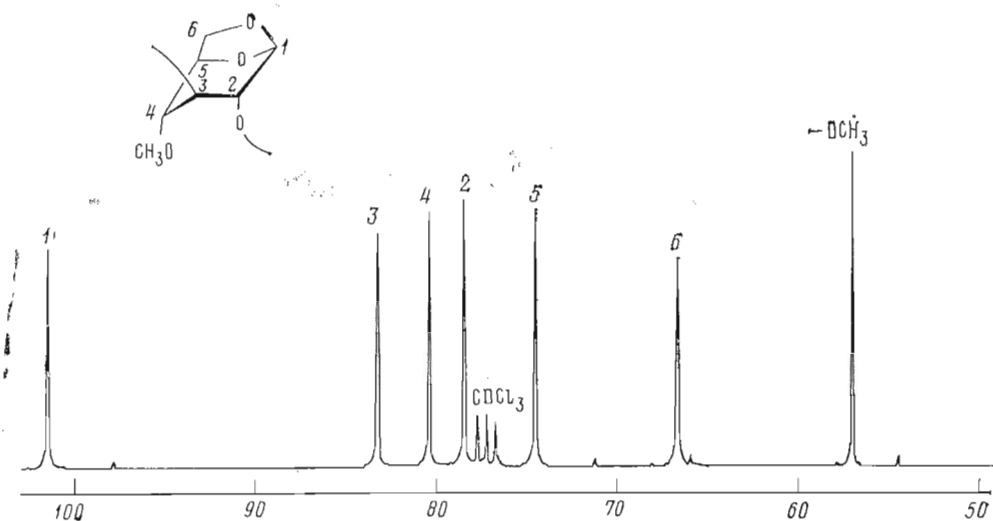
Осуществлен синтез высокомолекулярного полимера нового типа поли(2-3)-4-О-метил-1,6-ангидро-β-D-глюкопиранозы – анионной полимеризацией диангидропроизводного маннопиранозы. Полимер характеризуется строгой стереорегулярностью, конформация элементарного звена полимерной цепи – кресло <sup>1</sup>C<sub>4</sub>.

Синтетические полисахариды являются важным разделом полимерной химии. Наибольший интерес представляют работы по получению синтетических полисахаридов путем катионной полимеризации ангидридов сахаров (см. обзор [1]). В последние годы в связи с возрастающим интересом к проблеме «Структура полисахарида и его функционирование в биологических системах» резко возросло количество публикаций по синтезу регио- и стереорегулярных гетерополисахаридов со строгой однородностью олигосахаридных фрагментов по длине цепи. Результаты этих исследований достаточно полно отражены в обзоре [2, 3].

Другое направление охватывает синтез принципиально новых, неизвестных в природе полимерных структур на основе сахаров. Эти работы имеют важный характер, обуславливая новые области применения полимеров в биологии, медицине и технике. Здесь следует отметить работы по синтезу карбо- и гетероцепных полимеров полимеризацией неопределенных эфиров моносахаридов (см. обзор [4]). Полимеры этого типа, сочетающие в себе прочную негидролизуемую основную цепь с углеводным окружением, широко используются в биологии, в частности для иммобилизации биологических объектов. Представляют интерес работы по синтезу полимеров, построенных из углеводных мономерных звеньев посредством простых эфирных связей, полимеризацией 5,6-ангидроглюкозы [5, 6] и 3,5-ангидроксилкозы [7]. Целью данной работы является синтез первого представителя класса (2-3)-связанных полимеров – поли(2-3)-4-О-метил-1,6-ангидро-β-D-глюкопиранозы (I) путем анионной полимеризации 1,6;2,3-диангидро-4-О-метил-β-D-маннопиранозы (II) [8].



Полимеризацию мономера (II) осуществляли в прецизионных условиях под действием бутилцеллозольволята калия в растворе тетрагидрофурана. Все операции по синтезу инициатора, его дозировке, перегонке



Спектр  $^{13}\text{C}$ -ЯМР поли(2-3)-4-О-метил-1,6-ангидро- $\beta$ -D-глюкопиранозы (I). Мипорные пики отвечают примеси мономера [9]

мономера в последней стадии его очистки и заполнению реакционного сосуда осуществляли на вакуумной установке в цельнопаяных системах, в условиях, исключающих попадание влаги и кислорода воздуха в систему.

Полимеризацию проводили при  $60^\circ\text{C}$  в течение 6 ч. После окончания полимеризации реакционный сосуд вскрывали, полимер осаждали метанолом, переосаждали метанолом из хлороформа, сушили в вакууме до постоянной массы. Выход полимера количественный. Степень полимеризации 250 (эбулиоскопия).

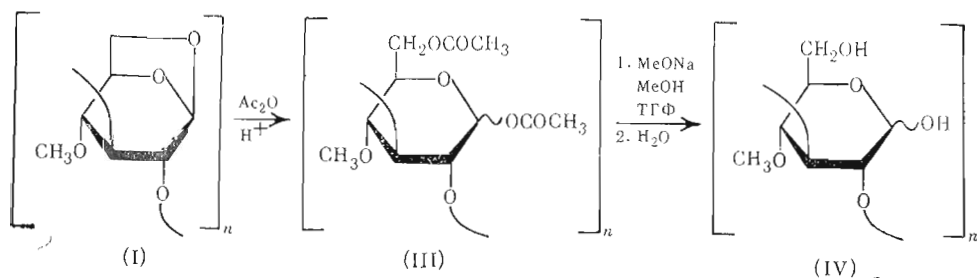
Спектр  $^{13}\text{C}$ -ЯМР, представленный на рисунке, свидетельствует о высокой стереоспецифичности процесса полимеризации. Согласно правилу диаксиального раскрытия эпоксидов, следует ожидать образования полимера с D-глюко-конфигурацией. Действительно, известно, что нуклеофильная атака анионов на окисный цикл (II) идет по C2 и приводит к D-глюкопроизводным [10]. Экспериментально найденное значение молекулярного вращения полимера (I)  $-100,2^\circ$  хорошо согласуется с молекулярным вращением производных левоглюкозана, которое для описанных в литературе соединений составляет величину более  $-200^\circ$  и существенно отличается от соответствующих значений производных 1,6-ангидро- $\beta$ -D-альтрозы (ожидаемая структура при диэкваториальном раскрытии эпоксида), где максимальные значения этого параметра не превышают  $-300^\circ$ . Данные по молекулярному вращению производных 1,6-ангидро- $\beta$ -D-глюкопиранозы и -альтропиранозы рассчитывали из удельного вращения углеводов, представленных в обзоре [11]. Окончательно D-глюко-конфигурацию пиранозного цикла подтверждает анализ спектра ПМР. Константы спин-спинового взаимодействия (КССВ) протонов H2, H3 и H4 равны 1–2 Гц, что характерно для D-глюкопроизводных 1,6-ангидро- $\beta$ -D-гексоз. В альтернативном случае, если бы атака 2,3-ангидроцикла алкоксидом пошла по C3 с образованием продукта альтро-конфигурации, в спектре должна была бы наблюдаться для H2 и H3 КССВ  $\sim 10$  Гц [12]. Малые значения КССВ для указанных протонов дают основание полагать, что пиранозный цикл имеет конформацию  ${}^1C_4$ .

Интерпретация спектра  $^{13}\text{C}$ -ЯМР полимера (I) проведена в соответствии с данными по химическим сдвигам  $^{13}\text{C}$  алкильных производных левоглюкозана [13]. Сравнительный анализ этих спектров позволяет однозначно идентифицировать атомы C1, C5, C6 и  $-\text{O}-\text{C}\text{H}_3$  в спектре синтезированного полимера (I). Сигналы атомов C3 в алкильных замещенных левоглюкозана резонируют в более слабом поле по сравнению

с С4 и С2. В соответствии с этим 82,8 м.д., по-видимому, является химическим сдвигом атома С3. Менее однозначно можно сделать отнесение атомов С2 и С4. Различия в химических сдвигах этих атомов в метилированных производных левоглюкозана малы, тем не менее, поскольку для атома С4 в триметиллевоглюкозана наблюдается несколько больший сдвиг, сигнал при 80,2 м.д. можно отнести к С4, а при 78,1 м.д. — к атомам С2 пиранозного цикла полимера (I).

Поскольку основная цепь полимера (I) представляет собой полиэфирную структуру, следует ожидать высокой гидролитической стойкости основной цепи. Действительно, кипячение 2,2% раствора полимера в 1 М  $H_2SO_4$  (тетрагидрофуран — вода, 4:1, по объему) в течение 6 ч приводит лишь к частичному гидролизу 1,6-ангидроциклов без существенной фрагментации звеньев полимерной цепи. Значительно легче происходит раскрытие 1,6-ангидроциклов в реакции ацетоллиза полимера (I) под действием  $H_2SO_4$  в уксусном ангидриде. Степень завершенности реакции контролировали поляриметрически. Введение  $H_2SO_4$  в раствор полимера (I) в уксусном ангидриде вызывает увеличение угла оптического вращения, причем процесс заканчивается задолго до достижения предельного значения. Введение новой порции  $H_2SO_4$  вызывает дальнейшее увеличение оптического вращения. Предельное, не меняющееся после добавления  $H_2SO_4$  значение угла достигается через 2,5 ч при конечном мольном отношении (I) —  $H_2SO_4$ , равном 8,2. Поли(2-3)-1,6-ди-О-ацетил-4-О-метил-*D*-глюкопираноза (III), по данным  $^{13}C$ -ЯМР (отсутствие сигналов в районе 100 м.д.), не содержала 1,6-ангидроциклов. Сравнение молекулярных масс полимеров (I) и (III) свидетельствует об отсутствии фрагментации полимерной цепи в ходе ацетоллиза.

Поли(2-3)-1,6-ди-О-ацетил-4-О-метил-*D*-глюкопираноза (III) легко превращается в (2-3)-полиглюкозу со свободными при С1 и С6 гидроксильными группами под действием метилата натрия в среде метанола — тетрагидрофуран. Полученная поли(2-3)-4-О-метил-*D*-глюкоза (IV) хорошо растворима в воде. В спектрах ИК- и  $^{13}C$ -ЯМР полиэфира (IV) отсутствует характерное поглощение ацетатных групп, что свидетельствует о количественном превращении соединения (III) в полиэфир (IV).



Таким образом, поли(2-3)-4-О-метил-1,6-ангидро-β-*D*-глюкопираноза (I) является негидролизуемым полимером нового типа. Он характеризуется линейной регулярной последовательностью углеводных звеньев в основной цепи, связанных собой простыми эфирными связями. Наличие кислотолабильного 1,6-ангидроцикла в каждом элементарном звене полимерной цепи позволяет, используя набор методов химии гликозидного центра и первичной гидроксильной группы, получить ряд негидролизуемых производных полиглюкозы этого типа.

### Экспериментальная часть

Спектры  $^{13}C$ -ЯМР получены на спектрометре Bruker WM-250 (рабочая частота 62,89 МГц) в 15% растворе  $CDCl_3$  при 20° С в условиях полного подавления спин-спинового взаимодействия с протонами (число накоплений 10 000, импульс 45°, объем памяти 16 К, частота повторения импульса 0,5 с). Оптическое вращение и кинетику ацетоллиза 1,6-ангидро-

производных анализировали на поляриметре А1-ЕПО (СССР). Молекулярную массу определяли эбулиоскопически на приборе ЭП СКБ ИОХ АН СССР в растворе  $\text{CHCl}_3$ . Тетрагидрофуран сушили последовательно  $\text{KOH}$ ,  $\text{Na}$  в виде проволоки, на последних стадиях очистки обрабатывали сплавом  $\text{K-Na}$  (4:1 вес.) и хранили со сплавом в вакуумных условиях. Бутилцеллозольв сушили  $\text{CaH}_2$ , затем молекулярными ситами 4 Å (сита прокаливали 5 ч в вакууме  $1 \cdot 10^{-3}$  торр при  $300^\circ\text{C}$ ) и дозировали в вакууме в тонкостенные стеклянные ампулы.

Все операции по синтезу бутилцеллозольволята калия, окончательной очистке мономера, заполнению реакционного сосуда проводили в вакуумных условиях ( $P < 1 \cdot 10^{-3}$  торр) с использованием цельнопаечных систем.

Прибор для получения бутилцеллозольволята калия представлял собой две стеклянные ампулы объемом 200 мл, соединенные трубкой с впаянным шотовским фильтром. Первая ампула, снабженная трубкой с тонкостенной разбиваемой перегородкой, соединялась через край с вакуумной системой. Вторая имела два боковых отвода. В одном из них находились остеклованный магнитный боек и 1,23 г ( $1,0 \cdot 10^{-2}$  моль) бутилцеллозольва в тонкостенной ампуле, в другом — 0,55 г калия (40% избыток). При непрерывном откачивании системы калий сублимировали в ампулу нагреванием соответствующего бокового отвода, отвод отпаивали и после охлаждения ампулы в нее конденсировали 50 мл тетрагидрофурана со сплава  $\text{K-Na}$ . Энергичным движением магнита посредством бойка вскрывали ампулу с бутилцеллозольвом. Взаимодействие реагентов сопровождается интенсивным газовыделением. При  $20^\circ\text{C}$  систему выдерживали 3 сут. Затем откачивали водород, прибор отпаивали от вакуумной системы, раствор фильтровали в ампулу с тонкостенной перегородкой и отпаивали. Раствор дозировали по объему в тонкостенные стеклянные ампулы. Концентрацию раствора устанавливали обратным титрованием. Дозированную навеску вскрывали в избытке 0,1 н. раствора  $\text{HCl}$  и титровали 0,1 н.  $\text{NaOH}$ . Раствор инициатора содержит 0,20 моль  $\cdot \text{л}^{-1}$  бутилцеллозольволята калия, что соответствует количественной конверсии бутилцеллозольва.

*Поли(2-3)-4-О-метил-1,6-ангидро-β-D-глюкопираноза (I).* 2,35 г ( $1,50 \cdot 10^{-2}$  моль) 1,6;2,3-диангидро-4-О-метил-β-D-маннопиранозы (II) [8] в растворе 5 мл абс. тетрагидрофурана обрабатывали 10 ч при  $20^\circ\text{C}$  натрием в виде проволоки (~0,5 г) и раствор фильтровали в ампулу, снабженную тонкостенной стеклянной перегородкой, затем добавляли 0,5 г  $\text{CaH}_2$  и закаливали. Раствор выдерживали 10 сут при  $20^\circ\text{C}$ , ампулу припаивали к вакуумной системе, откачивали и вскрывали тонкостенную перегородку в вакууме посредством остеклованного магнитного бойка. Содержимое ампулы перегоняли в реакционный сосуд, содержащий тонкостенную ампулу с 0,72 мл раствора инициатора ( $1,44 \cdot 10^{-4}$  моль) и боек. При перегонке все коммуникации обогрели до  $150^\circ\text{C}$  пропусканием тока через обмотку нихромовой проволоки. После окончания перегонки последовательно отпаивали исходную ампулу с  $\text{CaH}_2$  и реакционный сосуд от вакуумной системы. Энергичным встряхиванием разбивали тонкостенную ампулу с инициатором, перемешивали содержимое реакционного сосуда и выдерживали 6 ч при  $60^\circ\text{C}$ . Затем реакционный сосуд вскрывали, раствор отфильтровывали, полимер осаждали 50 мл метанола, пересаждали из хлороформа (4 мл) метанолом (50 мл) и сушили 15 ч до постоянного веса при  $20^\circ\text{C}$  в вакууме  $< 1 \cdot 10^{-3}$  торр. Выход полимера (I) 2,30 г (98%).  $[\alpha]_D^{20} -63,4^\circ$  (с 1,6;  $\text{CHCl}_3$ );  $[\alpha]_D^{20} -56,4^\circ$  (с 3,3; укусный ангидрид);  $M_n 40 \cdot 10^3$  ( $\text{CHCl}_3$ ). Спектр  $^1\text{H-NMR}$  (δ, м.д.): 5,49 с (1H, H1), 3,53 уш. с (2H, H2, H3), 3,20 уш. с (1H, H4), 4,53д (1H, H5,  $J_{5,6-3,3,0}$  5 Гц), 3,80д (1H, H6<sub>эпидо</sub>,  $J_{6,6'}$  7,5 Гц), 3,67 дд (1H, H6<sub>экс</sub>,  $J_{6',5}$  5 Гц;  $J_{6',6}$  7,5 Гц), 3,43 с (3H, OMe).

*Поли(2-3)-1,6-ди-О-ацетил-4-О-метил-D-глюкопираноза (III).* Раствор 0,72 г ( $4,6 \cdot 10^{-3}$  моль) поли(2-3)-1,6-ангидро-4-О-метил-β-D-глюкопиранозы (I) в 6,6 мл укусного ангидрида загрузили в кювету поляриметра ( $l$  10 см). Затем последовательно вводили ( $9,5 \cdot 10^{-5}$ ;  $6,3 \cdot 10^{-5}$ ;  $2,0 \cdot 10^{-4}$  и  $2,0 \cdot 10^{-4}$  моль)  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Загрузку  $\text{H}_2\text{SO}_4$  осуществляли весовым методом.

Каплю 98%  $H_2SO_4$  наносили в углубление верхней части конуса шлифованной пробки кюветы поляриметра (взвешено до и после нанесения), этой пробкой закрывали кювету, кювету энергично встряхивали и помещали в поляриметр. Новую порцию  $H_2SO_4$  вводили после прекращения изменения угла вращения, причем последняя порция  $H_2SO_4$  не меняла предельного значения этого угла. Температура кюветного отделения поляриметра  $25 \pm 1,0^\circ C$ . Через 3 ч содержимое кюветы вылили в 100 мл воды со льдом, выпавший полимер декантировали, промыли водой (10×100 мл), сушили в течение 24 ч при  $20^\circ C$  в вакууме  $1 \cdot 10^{-3}$  торр до постоянного веса. Выход полимера 1,02 г (95%),  $[\alpha]_D^{20} +101,2^\circ$  (с 1,2;  $CHCl_3$ ),  $M_n =$

$=60 \cdot 10^3$  ( $CHCl_3$ ). Спектр  $^{13}C$ -ЯМР ( $\delta$ , м.д.): 170,6; 169,1 ( $-C-$ ); 94,0; 92,5; 90,45; 89,1 (C1); 80,1; 78,8; 73,4 (C2, C3, C4); 70,9 (C5); 62,9 (C6); 60,5 ( $OCH_3$ ); 21,2; 20,75 ( $CH_3$ , ацетат).

*Поли(2-3)-4-О-метил-D-глюкоза (IV)*. К раствору 0,46 г поли(2-3)-1,6-ди-О-ацетил-4-О-метил-D-глюкопиранозы (III) в 5 мл абсолютного тетрагидрофурана прилили раствор 0,024 г Na в 5 мл абсолютного метанола. Через 5 мин добавили еще 10 мл абсолютного метанола. Перемешивали 1 ч при  $20^\circ C$ . После этого довели водой объем до 100 мл и прибавляли катионит КУ-2 ( $H^+$ -форма) до pH  $\sim 7$ .

Раствор диализовали через мембрану Serva в 5 л дистиллированной воды (3×12 ч), лиофилизировали и сушили 24 ч в вакууме ( $1 \cdot 10^{-3}$  торр) при  $20^\circ C$ . Выход 0,29 г (98%), светло-желтый порошок,  $[\alpha]_D^{20} +22,7^\circ$  (с 0,6;  $H_2O$ ).

Авторы благодарны А. С. Шашкову за съемку спектров ЯМР, а также А. Ф. Свиридову и А. С. Шашкову за плодотворное обсуждение результатов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Schuerch C. Adv. Carbohydr. Chem. and Biochem., 1981, v. 39, p. 157-212.
2. Кочетков Н. К. Изв. АН СССР. Сер. хим., 1982, № 7, с. 1543-1572.
3. Kochetkov N. K. Sov. Scientific Reviews Sect. B. Chem. Rev., 1982, v. 4, p. 1-69.
4. Коршак В. В., Штильман М. И. Полимеры в процессах иммобилизации и модификации природных соединений. М.: Наука, 1984, с. 65-72.
5. Nevin R. S., Sarkanen K., Schuerch C. J. Amer. Chem. Soc., 1962, v. 84, № 1, p. 78-82.
6. Uryu T., Kitano K., Tachikawa H., Ito K., Matsuzaki K. Macromol. Chem., 1978, v. 179, № 8, p. 1773-1778.
7. Uryu T., Koyama Y., Matsuzaki K. J. Polym. Sci., Polym. Lett., 1979, v. 17, № 10, p. 673-678.
8. Carlson L. J. Org. Chem., 1965, v. 30, № 11, p. 3953-3955.
9. Шашков А. С., Шмырина А. Я., Свиридов А. Ф., Арифходжаев Х. А., Чижов О. С. Биоорган. химия, 1977, т. 3, № 11, с. 1503-1511.
10. Williams N. R. Adv. Carbohydr. Chem. and Biochem., 1970, v. 25, p. 109-179.
11. Cerný M., Stanek J. Jr. Adv. Carbohydr. Chem. and Biochem., 1977, v. 34, p. 23-177.
12. Свиридов А. Ф., Яшунский Д. В., Ермоленко М. С., Кочетков Н. К. Изв. АН СССР. Сер. хим., 1984, № 3, с. 723-725.
13. Гуляев Н., Шмырина А. Я., Свиридов А. Ф., Шашков А. С., Чижов О. С. Биоорган. химия, 1977, т. 3, № 1, с. 50-54.

Поступила в редакцию  
29.XII.1984  
После доработки  
11.III.1985

#### REGIO- AND STEREOSPECIFIC SYNTHESIS OF POLYGLUCOSE WITH A NEW TYPE BOND

BERMAN E. L., GORKOVENKO A. A., ZUBOV V. P. \*, PONOMARENKO V. A.

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

High-molecular polysaccharide of a novel type, poly(2→3)-4-O-methyl-1,6-anhydro-β-D-glucopyranose, has been synthesized by anionic polymerization of a dianhydro derivative of mannopyranose. The polysaccharide is strictly stereoregular, conformation of the repeating unit being  $^1C_4$ . From this polymer a 4-O-methyl derivative of poly(2→3)-D-glucopyranose was synthesized.