



УДК 547.458.27.057

ОДНОВРЕМЕННЫЙ СИНТЕЗ ДИСАХАРИДОВ  $\text{Fuc}\alpha 1 \rightarrow 3\text{GlcNAc}$   
И  $\text{Fuc}\alpha 1 \rightarrow 4\text{GlcNAc}$   
В ВИДЕ  $\beta$ -(ТРИФТОРАЦЕТАМИДОПРОПИЛ)ГЛИКОЗИДОВ

Бовин Н. В.\*, Хорлин А. Я.

Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина  
Академии наук СССР, Москва;

\* Всесоюзный научно-исследовательский институт биотехнологии  
Минмедбиопрома СССР, Москва

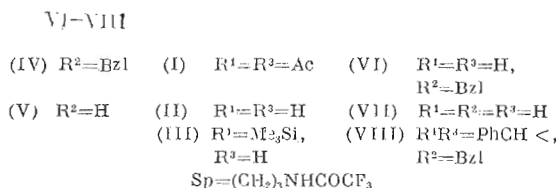
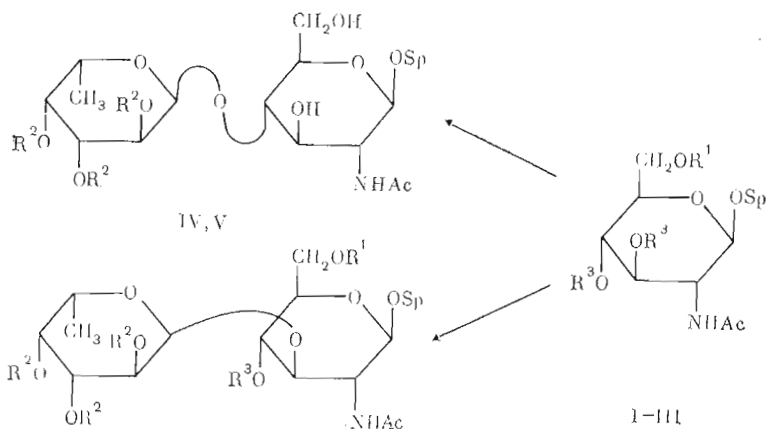
Моно-О-триметилсилильное производное триола  $\text{GlcNAc}\beta 1 \rightarrow \text{O}(\text{CH}_2)_3\text{NHCOCF}_3$  неселективно  $\alpha$ -фукозилеровали 2,3,4-три-О-бензил-*L*-фукопираозилбромидом. Смесь полученных после удаления временной триметилсилильной защиты (1 $\rightarrow$ 3)- и (1 $\rightarrow$ 4)-дисахаридов (соотношение  $\sim 1:1$ ) обрабатывали  $\text{PhCH}(\text{OMe})_2$ , полученное бензилиденное производное (1 $\rightarrow$ 3)-дисахарида отделяли от неизменного (1 $\rightarrow$ 4)-дисахарида. Гидролизом получены  $\text{Fuc}\alpha 1 \rightarrow 4\text{GlcNAc}\beta 1 \rightarrow \text{O}(\text{CH}_2)_3\text{NHCOCF}_3$  и  $\text{Fuc}1 \rightarrow 3\text{GlcNAc}\beta 1 \rightarrow \text{O}(\text{CH}_2)_3\text{NHCOCF}_3$ .

Для синтеза дисахаридов, различающихся положением гликозидной связи, обычно используют два подхода: 1) (традиционный) сначала получают защищенные моносахариды с одной свободной OH-группой в нужном положении, затем моногидроксильные производные гликозилируют; 2) региоселективно гликозилируют диол, направляя реакцию по одному или другому гидроксилу при помощи подобранного катализатора; так, могут быть дискриминированы экваториальная (3-OH) и аксиальная (4-OH) группы в галактозном диоле [1, 2] и даже две экваториальные группы (3-OH и 4-OH) в глюкозаминовом диоле [3, 4]. В данной работе предлагается третий подход: неселективно гликозилировать диол, а полученную смесь двух дисахаридов разделять после избирательной дериватизации одного из них.

Дисахариды  $\text{Fuc}\alpha 1 \rightarrow 3\text{GlcNAc}$  и  $\text{Fuc}\alpha 1 \rightarrow 4\text{GlcNAc}$  интересны тем, что являются распространенными терминальными фрагментами многих гликоконъюгатов, например группоспецифических [5] и опухолеассоциированных антигенов [6].

Для временной защиты первичной гидроксильной группы триола (II), полученного из триацетата (I), использовалась триметилсилильная группа. Триол (II) силилировали гексаметилдисилазаном (1 моль/моль) в пиридине при нагревании до исчезновения исходного соединения; при этом (судя по ТСХ) образуется один главный компонент, предположительно эфир (III), и некоторое количество бис-триметилсилильных производных.  $\alpha$ -Фукозилерованию подвергали смесь всех образовавшихся компонентов, предполагая, что как соединение (III), так и смесь бис-триметилсилильных производных должны дать в конечном итоге дисахариды (IV) и (VI) в соотношении 1:1. Кроме защиты первичной гидроксильной группы силилирование в данном случае играло еще одну существенную роль: резко увеличивало растворимость агликонового компонента в условиях гликозилирования.

Гликозилирование проводили 2,3,4-три-О-бензил- $\alpha$ -*L*-фукопираозилбромидом [7] методом галоид-ионного катализа [8], затем  $\text{Me}_3\text{Si}$ -группу удаляли мягким кислотным гидролизом и хроматографией выделяли дисахаридную фракцию (выход 72%, подвижности дисахаридов совпадают). Затем полученную смесь обрабатывали избытком  $\alpha, \alpha$ -диметокситолуола в присутствии 4-толуолсульфокислоты и получали смесь (1 $\rightarrow$ 4)-дисаха-



рида (IV) с бензилиденовым производным (VIII) (1→3)-дисахарида (VI), которая уже легко разделялась препаративной колоночной хроматографией.

Данные спектров <sup>1</sup>H-ЯМР и <sup>13</sup>C-ЯМР (таблица) однозначно говорят о том, что соединение (IV) представляет собой индивидуальное вещество и не содержит примесей (1→3)- и (1→6)-изомеров. Гидронолиз производного (IV) дал один из целевых дисахаридов (V), а гидронолиз соединения (VIII) — второй дисахарид (VII).

**Химические сдвиги <sup>13</sup>C-ЯМР в DMSO**  
Внутренний стандарт — тетраметилсилан

Соединение	NCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> O	CH <sub>3</sub> (Ac)	CO(Ac)	C-1 (C-1')	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6 (C-6')
II	36,76; 28,59; 66,03	23,16	169,49	101,23	55,49	74,47	70,81	77,12	61,24
IV	36,47; 28,38; 65,93	22,86	169,40	100,86 (97,14)	55,89	72,56	78,45	—	59,66 (16,31)
VI	36,47; 28,36; 65,86	22,93	169,14	100,91 (95,61)	54,71	77,94	68,22	—	60,85 (16,30)

Таким образом, синтезированы дисахариды Fucα1→3GlcNAc и Fucα1→4GlcNAc в форме, удобной для иммобилизации, а также их частично защищенные производные — синтоны для получения более сложных олигосахаридов.

### Экспериментальная часть

Температуры плавления определяли на приборе Boetius (ГДР). Оптическое вращение измеряли на поляриметре Perkin — Elmer (США) при 20–25° С. Спектры <sup>1</sup>H-ЯМР сняты на приборе Varian SC-300 (300 МГц), спектры <sup>13</sup>C-ЯМР — на приборе Bruker WM (250 МГц); химические сдвиги приведены в миллионных долях. ТСХ проводили на пластинках с силикагелем 60F-254 (Е. Мерск), вещества обнаруживали 5% раствором серной кислоты в метаноле при 150° С. Колоночную хроматографию осуществляли на силикагеле 40–100 мкм (Chemapol, ЧССР). Тетраэтиламмоний-бромид и 4-толуолсульфокислоту высушивали в вакууме при 0,5 мм рт. ст. в течение 1 ч при 20° С. Результаты элементного анализа соединений (I), (V), (VII) удовлетворительно совпадают с вычисленными.

(3-Трифторацетамидопропил)-3,4,6-три-О-ацетил-2-ацетамидо-2-дезоксид-β-D-глюкопиранозид (I). 10,85 г (33 ммоль) три-О-ацетил-α-D-глюко[2,1-d]-2-оксазолина [9] растворили в смеси 30 мл нитрометана и 30 мл 1,2-дихлорэтана, прибавили 6,8 г

(40 ммоль) 3-трифторацетамидопропанола [7], 5 г сит 4 Å и выдержали 3 ч при 20° С. Затем прибавили 0,3 г 4-толуолсульфокислоты и смесь кипятили с обратным холодильником в течение 2 ч, охладили, прибавили по 10 мл пиридина и уксусного ангидрида (ацетилирование проводили для облегчения последующей кристаллизации). Через 2 ч раствор отделили от сит, упарили, остаток растворили в 500 мл хлороформа и раствор пропустили через слой нейтральной окиси алюминия (1,5×7 см), после чего упарили до объема 30 мл и закристаллизовали гликозид (I) добавлением эфира. После второй кристаллизации получили 9 г (54%) чистого гликозида (I), т. пл. 154°–155° С,  $[\alpha]_D^{+42}$  (с 1, СНCl<sub>3</sub>): 1,87м (2Н, ССН<sub>2</sub>С), 1,95с, 2,04с, 2,05с, 2,10с (12Н, 4Ас), 4,61д (1Н, J<sub>1,2</sub> 8 Гц, Н-1), 6,07д (1Н, J<sub>НН,2</sub> 8 Гц, НАс), 7,47м (1Н, CF<sub>3</sub>CONH).

(3-Трифторацетамидопропил)-2-ацетамидо-2-дезоксид-β-D-глюкопиранозид (II). Дезацетилировавшим по Земплену из триацетата (I) количественно получили триол (II), т. пл. 185–187° С, спектр <sup>13</sup>С-ЯМР приведен в таблице. <sup>1</sup>Н-ЯМР (D<sub>2</sub>O): 1,86м (2Н, ССН<sub>2</sub>С), 2,05с (3Н, Ас), 4,52д (1Н, J<sub>1,2</sub> 8,5 Гц, Н-1).

Смесь (3-Трифторацетамидопропил)-2-ацетамидо-4- и 3-О-(2,3,4-три-О-бензил-α-L-фукопиранозил)-2-дезоксид-β-D-глюкопиранозидов (IV)+(VI). 2,6 г (7 ммоль) триола (II) и 1,1 г (7 ммоль) гексаметилдисилазана в 70 мл пиридина нагрели до 50° С и выдержали 1 ч при этой температуре и 15 ч при 20° С, после чего исходный триол (II) на ТСХ (хлороформ–метанол, 3:1) не обнаруживался. Полученный раствор упарили досуха, остаток растворили в смеси 25 мл диметилформамида и 50 мл дихлорметана, прибавили 3,15 г (15 ммоль) тетраэтиламмонийбромид, 1,6 мл (10 ммоль) диизопропиламина, 15 г сит 4 Å и выдержали 15 ч при 20° С в темноте. Затем к смеси прибавили 5,0 г (10 ммоль) свежеприготовленного 2,3,4-три-О-бензил-α-L-фукопиранозилбромида [7] и оставили при 20° С на 5 сут. Раствор отделили от сит, сита промыли хлороформом и к раствору прибавили смесь 20 мл уксусной кислоты и 20 мл метанола, через 3 ч разбавили вдвое хлороформом, промыли 150 мл воды, водный раствор трижды экстрагировали хлороформом (по 100 мл), объединенный органический раствор высушили и упарили. Остаток нанесли на колонку (3,5×30 см) с силикагелем и элюировали смесью хлороформ–метанол (19:1), 4 г (72%) вещества с R<sub>f</sub> 0,15 (та же система), которое, судя по спектру <sup>13</sup>С-ЯМР, представляло собой смесь дисахаридов (IV) и (VI) в приблизительно равных количествах.

(3-Трифторацетамидопропил)-2-ацетамидо-4-О-(2,3,4-три-О-бензил-α-L-фукопиранозил)-2-дезоксид-β-D-глюкопиранозид (IV) и (3-трифторацетамидопропил)-2-ацетамидо-4,6-О-бензиден-3-О-(2,3,4-три-О-бензил-α-L-фукопиранозил)-2-дезоксид-β-D-глюкопиранозид (VIII). Смесь гликозидов (IV)+(VI) растворили в 200 мл ацетонитрила, прибавили 5 мл α,α-диметокситолуола, нагрели до 40° С и прибавили 30 мг 4-толуолсульфокислоты. Через 5 мин раствор охладили, прибавили 1 мл триэтиламина, упарили и остаток нанесли на колонку (2,5×30 см) с силикагелем и элюировали сначала смесью хлороформ–ацетон (9:1), затем хлороформ–метанол (19:1) две фракции. Фракцию с большей подвижностью кристаллизовали из смеси хлороформ–эфир–гексан, получали 1,5 г бензиденового производного (VIII), т. пл. 156–157° С,  $[\alpha]_D^{-90}$  (с 1, СНCl<sub>3</sub>): 0,82д (3Н, J<sub>5',6'</sub> 7 Гц, СН<sub>3</sub> фукозы), 1,56с (3Н, Ас), 1,69м (2Н, ССН<sub>2</sub>С), 5,07д (1Н, J<sub>1',2'</sub> 3 Гц, Н-1'), 5,45с (1Н, PhCH), 6,13д (1Н, J 8 Гц, НАс), 7,20м (20Н, 4Ph), 7,63м (1Н, CF<sub>3</sub>CONH). Фракцию с меньшей подвижностью кристаллизовали из смеси этанол–гексан, получили 1,3 г диола (IV) т. пл. 196° С,  $[\alpha]_D^{-41}$  (с 1, СНCl<sub>3</sub>). Спектр <sup>13</sup>С-ЯМР приведен в таблице.

(3-Трифторацетамидопропил)-2-ацетамидо-2-дезоксид-4-О-(α-L-фукопиранозил)-β-D-глюкопиранозид (V). 395 мг (0,5 ммоль) диола (IV) подвергли гидрогенолизу в 200 мл ледяной уксусной кислоты над 200 мг 10% Pd/C при 20° С в течение 72 ч. Гель-фильтрацией на сефадексе LH-20 (колонка 3×90 см) в смеси метанол–хлороформ (3:2) выделили 200 мг (77%) дисахарида (V), т. пл. 166–169° С (этанол),  $[\alpha]_D^{-120}$  (с 1, метанол). <sup>1</sup>Н-ЯМР (D<sub>2</sub>O): 1,18д (3Н, J<sub>5',6'</sub> 6,5 Гц, СН<sub>3</sub> фукозы), 1,88м (2Н, ССН<sub>2</sub>С), 2,05с (3Н, Ас), 4,54д (1Н, J<sub>1,2</sub> 8 Гц, Н-1), 4,96д (1Н, J<sub>1',2'</sub> 3,5 Гц, Н-1').

(3-Трифторацетамидопропил)-2-ацетамидо-2-дезоксид-3-О-(α-L-фукопиранозил)-β-D-глюкопиранозид (VII). Бензиденовое производное (VIII) подвергли гидрогенолизу, как описано при получении гликозида (V). После гель-фильтрации с выходом 80% выделен гликозид (VII), аморфный,  $[\alpha]_D^{-93}$  (с 1, вода). <sup>1</sup>Н-ЯМР (D<sub>2</sub>O): 1,17д (3Н, J<sub>5',6'</sub> 6,5 Гц, СН<sub>3</sub> фукозы), 1,83м (2Н, ССН<sub>2</sub>С), 2,02с (3Н, Ас), 4,53д (1Н, J<sub>1,2</sub> 8,5 Гц, Н-1), 5,01д (1Н, J<sub>1',2'</sub> 4,2 Гц, Н-1').

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Paulsen H., Nadamczyk D., Steiger K.-M. // Carbohydr. Res. 1984. V. 131. № 1. P. C1–C5.
2. Paulsen H., Paal M. // Carbohydr. Res. 1985. V. 137. № 1. P. 39–62.
3. Бовин Н. В., Хорлин А. Я. // Биоорганическая химия. 1985. Т. 11. № 6. С. 826–829.
4. Бовин Н. В., Хорчагина Е. Ю., Хорлин А. Я. // Биоорганическая химия. 1985. Т. 11. № 9. С. 1253–1255.
5. Strecker G., Montreuil J. // Biochimie. 1979. V. 61. № 11–12. P. 1199–1246.
6. Nakomori S. // Ann. Rev. Immunol. 1984. V. 2. P. 103–126.
7. Бовин Н. В., Иванова И. А., Хорлин А. Я. // Биоорганическая химия. 1985. Т. 11. № 5. С. 662–670.

ONE-POT SYNTHESIS OF THE DISACCHARIDE Fuc $\alpha$ 1  $\rightarrow$  3GlcNAc AND  
Fuc $\alpha$ 1  $\rightarrow$  4GlcNAc  $\beta$ -TRIFLUOROACETAMIDOPROPYL GLYCOSIDES

BOVIN N.V.\*, KHORLIN A. Ya.

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

*\*Scientific-Industrial Association Biotechnology, Ministry of  
Medical and Microbiological Industry of the USSR, Moscow*

GlcNAc $\beta$ 1 $\rightarrow$ O(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHCOCF<sub>3</sub> was mono-O-trimethylsilylated followed by  $\alpha$ -fucosylation with 2,3,4-tri-O-benzyl-L-fucopyranosyl bromide and hydrolysis of the TMS protection, to give rise to a 1:1 mixture of 1 $\rightarrow$ 3 and 1 $\rightarrow$ 4 biosides. The mixture was then treated with PhCH(OMe)<sub>2</sub>, and the resultant 4,6-O-benzyliden derivative of 1 $\rightarrow$ 3 bioside was separated from the intact 1 $\rightarrow$ 4 bioside. Final hydrogenolysis led to Fuc $\alpha$ 1 $\rightarrow$ 3GlcNAc $\beta$ 1 $\rightarrow$ O(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHCOCF<sub>3</sub> and 1 $\rightarrow$ 4 isomer, precursors of Lewis artificial antigens.