



УДК 543.422.25 : 547.458.057 : 577.114.012

© 1991 г.

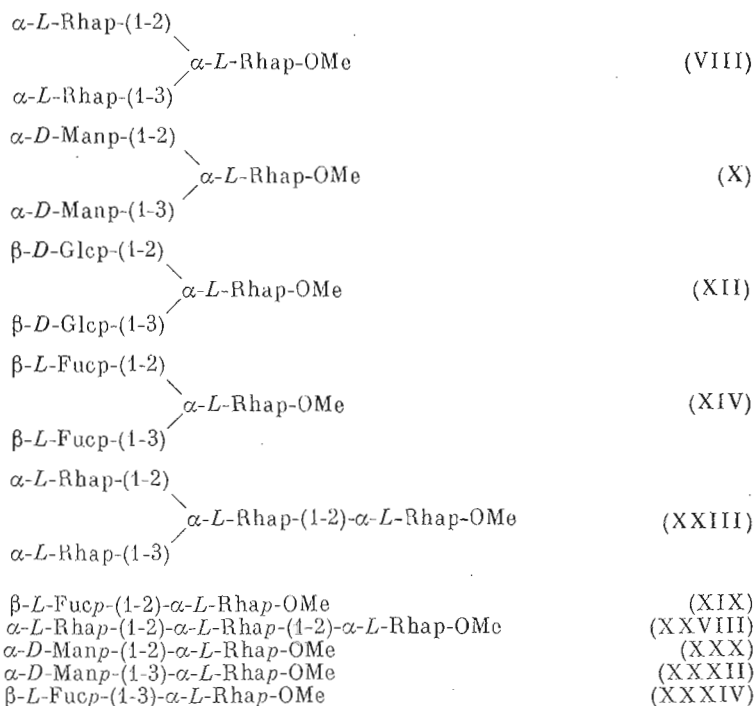
*П. Э. Нифантьев, Л. В. Бакимовский, Г. М. Липкинд,
А. С. Шапков, Н. Е. Кочетков*

СИНТЕЗ И ИССЛЕДОВАНИЕ СПЕКТРОВ ЯМР И КОНФОРМАЦИЙ РАЗВЕТВЛЕННЫХ ОЛИГОСАХАРИДОВ

1. СИНТЕЗ РАЗВЕТВЛЕННЫХ ОЛИГОСАХАРИДОВ, СОДЕРЖАЩИХ ОДИНАКОВЫЕ МОНОСАХАРИДНЫЕ ЗАМЕСТИТЕЛИ ПРИ О2 и О3 В ОСТАТКЕ α -L-РАМНОПИРАНОЗЫ

Институт органической химии им. П. Д. Зелинского АН СССР, Москва

Для исследования спектральных (ЯМР) и конформационных особенностей 2,3-бис-О-гликозилированных производных α -L-рамнопиранозы синтезированы следующие олигосахариды:



Для перечисленных соединений получены и полностью интерпретированы спектры ^1H - и ^{13}C -ЯМР, в случае олигосахаридов (VIII), (X), (XII), (XIV), (XXIII) и (XXVIII) с использованием двумерной корреляционной спектроскопии ЯМР ^1H - ^{13}C и одноступенчатой релейной корреляционной спектроскопии ^1H - ^1H COSYRCT.

Исследование конформаций олигосахаридов с использованием определяемых экспериментально ядерных эффектов Оверхаузера (ЯЭО) и данных теоретических расчетов выявляет стереохимические и структурные факторы, определяющие особенности конформационного строения олигосахаридов и влияющие на их спектральные (ЯМР) характеристики. Знание этих закономерностей не только позволяет предсказывать и интерпретировать спектры ^{13}C -ЯМР олигосахаридов и полисахаридов, содержащих эти олигосахариды как фрагменты, но и является основой для создания баз данных, позволяющих проводить бездеструктивный ана-

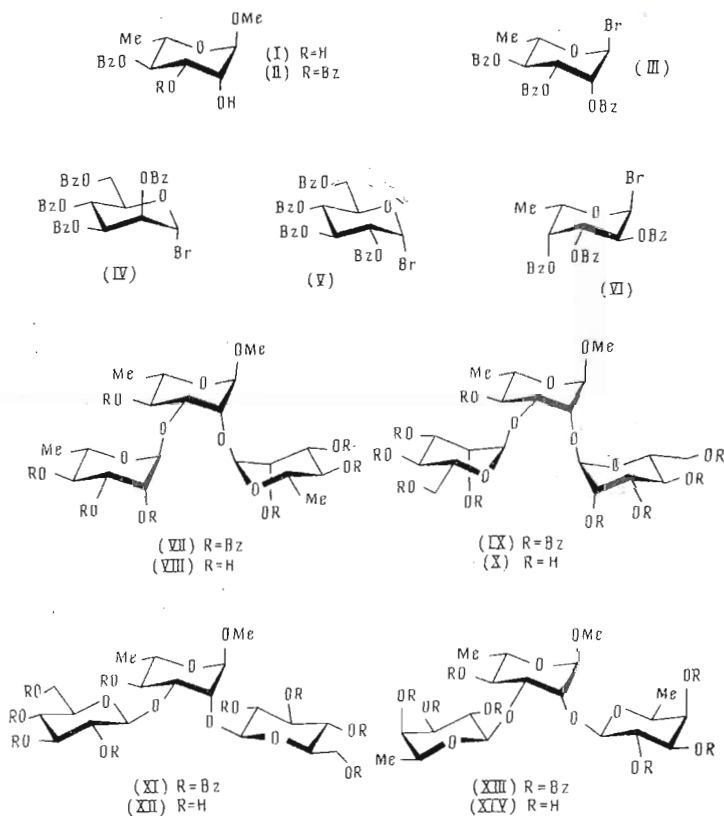
лиз строения полисахаридов с помощью компьютерной обработки их спектров ^{13}C -ЯМР. В настоящее время работами лаборатории подробно изучены конформационные и спектральные особенности дисахаридов [4] и создана программа для компьютерного анализа спектров ^{13}C -ЯМР линейных полисахаридов [2], успешно используемая на практике (см., например, [3—5]). Известна программа [6, 7], также предназначенная для анализа спектров линейных и разветвленных полисахаридов.

Исследование разветвленных по вицинальным положениям олиго- и полисахаридов показало, что их спектры ^{13}C -ЯМР могут существенно отличаться от рассчитанных по аддитивным схемам, исходя из данных для образующих их дисахаридных фрагментов (см., например, [8—15]). Это свидетельствует о том, что одинаковые дисахаридные фрагменты в составе линейных и разветвленных олиго- и полисахаридов могут иметь различные конформации. Поэтому для создания надежной компьютерной программы, позволяющей анализировать строение разветвленных полисахаридов по их спектрам ^{13}C -ЯМР, необходимо иметь соответствующие данные для достаточно широкого ряда разнообразных разветвленных олигосахаридов. Работы в этом направлении были начаты в нашей и ряде других лабораторий. Так, достаточно полно изучены конформации и спектральные особенности 3,4-бис-О-гликозилированных производных *D*-галактопиранозы [8, 10—12], и имеются отдельные работы, посвященные некоторым 2,3-бис-О-гликозил- β -*D*-галактопиранозидам [13] и 3,4-бис-О-гликозил- β -*D*-глюкопиранозидам [15]. Однако в перечисленных работах рассмотрены лишь отдельные случаи разветвленных олигосахаридных структур, встречающихся в полисахаридах. Найденные в [8, 10—12] спектральные закономерности уже были использованы для анализа спектров ^{13}C -ЯМР двух бактериальных полисахаридов [9, 14], содержащих фрагмент 3,4-бис-О-гликозилированной *D*-галактопиранозы.

Принимая во внимание практическую важность исследования конформаций и спектров ЯМР разветвленных олигосахаридов, мы начали планомерное исследование этих соединений. В связи с тем что в природе широко распространены полисахариды, содержащие остаток 2,3-бис-О-гликозилированной α -*L*-рамнопиранозы, нами были в первую очередь синтезированы и изучены спектры ^{13}C -ЯМР и конформации метил-2,3-бис-О-гликозил- α -*L*-рамнопиранозидов. Отметим, что эти олигосахариды относятся к группе, в которой один из вицинальных заместителей занимает аксиальное положение, а второй — экваториальное.

Данная работа посвящена синтезу метилгликозидов разветвленных олигосахаридов (VIII), (X), (XII), (XIV) и (XXIII), содержащих при O2 и O3 α -*L*-рамнопиранозного фрагмента одинаковые моносахаридные заместители: остатки α -*L*-рамнопиранозы, α -*D*-маннопиранозы, β -*D*-глюкопиранозы или β -*L*-фукопиранозы. Перечисленные заместители различаются абсолютной конфигурацией (*L*, *D*) и/или конфигурацией аномерного центра (α , β). Олигосахариды (VIII) и (XXIII) имеют одинаковый трирамнозидный фрагмент и отличаются размером заместителя при O1 бисгликозилированного остатка рамнозы. Сравнение спектров ^{13}C -ЯМР соединений (VIII) и (XXIII) было важно для вывода о правомочности «трисахаридного приближения» при моделировании разветвленных полисахаридов.

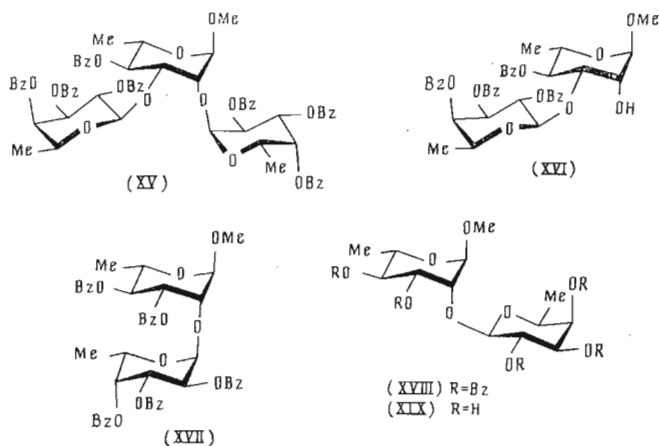
Для получения олигосахаридов (VIII), (X), (XII) и (XIV), в которых моносахаридные остатки соединены 1,2-*транс*-гликозидной связью, мы планировали использовать бис-гликозилирование диола (I) [16] с помощью бензобромпроизводных рамнозы (III), маннозы (IV), глюкозы (V) и фукозы (VI) в условиях реакции Гельфериха. В первых двух случаях реакция не вызвала трудностей — гликозилирование проводили при комнатной температуре, и с высокими выходами были получены бензоилированные трисахаридные продукты (VII) и (IX). Бензобромглюкоза (V) практически не вступала во взаимодействие с диолом (I) при комнатной температуре, поэтому реакцию проводили при нагревании при 60—70° С. В результате была получена сложная смесь продуктов, из которой с помощью ВЭЖХ удалось выделить в индивидуальном состоянии только пре-



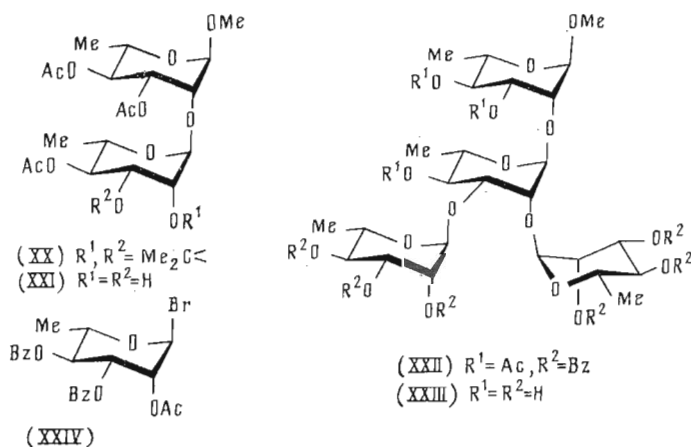
обладающий в смеси трисахарид (XI), выход которого составлял 70%. Побочными продуктами гликозилирования являлись, судя по данным спектров ^{13}C -ЯМР, олигосахариды с α -гликозидной связью.

Иначе происходило гликозилирование диола (I) бензобромфукозой (VI). При взаимодействии соединений (I) и (VI) (3 эквивалента; в синтезах трисахаридов (VII), (IX) и (XI) использовалось по 4 эквивалента бензобромсахаров (III)—(V)) в условиях реакции Гельфериха (реакция проводилась при комнатной температуре) в качестве двух главных продуктов с выходами 48 и 40% были получены трисахарид (XV), содержащий α -L-фукопиранозильный остаток при O2, и продукт моногликозилирования диола (I) — дисахарид (XVI) со свободной OH-группой при C2. Целевой бис- β -L-фукозилированный трисахарид (XIII) в реакционной смеси обнаружен не был. Очевидно, что нежелательный стереохимический результат этой реакции — образование 2-O- α -L-фукозилированного продукта (XV) — определяется недостаточной реакционной способностью OH-группы при C2 в диоле (I) и в дисахариде (XVI) в реакции фукозилирования. Подобная ситуация наблюдалась нами ранее [17] при гликозилировании малореакционноспособной OH-группы в метил-6-O-ацетил-3-O-бензоил-2-дезоксид-2-фталимидо- β -D-глюкопиранозиде бензобромгалактозой (D-аналог бромида (VI)) — в условиях реакции Гельфериха преимущественно образовывался 1,2-*цис*-, а не 1,2-*транс*-связанный продукт. В работе [17] стереонизбирательность β -галактозилирования удалось значительно увеличить при проведении реакции в нитрометане в присутствии трифлата серебра и тетраметилмочевины. Можно было ожидать, что эти условия будут способствовать образованию целевого трисахарид (XIII) с двумя β -L-фукопиранозильными остатками. Моделльное фукозилирование метил-3,4-ди-O-бензоил- α -L-рамнопиранозид (II) [16] со свободной аксиальной OH-группой при C2 показало, что в условиях реакции Гельфериха происходит образование α -связанного дисахарид (XVII) и лишь следов β -связанного дисахарид (XVIII), идентифицированного в реакционной смеси с помощью ТСХ, тогда как в присутствии трифлата сереб-

ра продукты (XVII) и (XVIII) образовывались приблизительно в равном соотношении (выходы 30 и 32%).

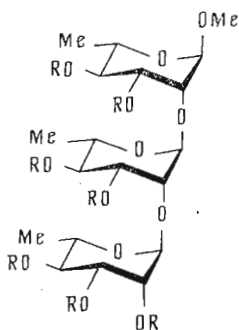


В повторном синтезе трисахарида (XIII) в качестве гликозил-акцептора мы использовали не диол (I), а дисахаридное моногидроксильное производное (XVI). При гликозилровании этого соединения бензобромфукозой (VI) в нитрометане в присутствии трифлата серебра и тетраметилмочевины не удалось достигнуть такого увеличения стереоизбирательности β -фукозилрования, как в упомянутых выше модельных опытах: трисахарид (XV) был по-прежнему преобладающим продуктом (выход 67%), а выход бис- β -фукозил-производного (XIII) составил 14%. Неудовлетворительный результат при получении соединения (XIII) следует учитывать при планировании синтезов других трисахаридов с 2-O- β -L-фукопиранозил-рамнозным фрагментом. Схема, включающая в себя первоначальное 2-O- β -L-фукозилрование подходящим образом защищенного производного метил- α -L-рамнопиранозида с последующим 3-O-гликозилрованием, представляется теперь более эффективной, чем основанная на введении β -L-фукопиранозильного остатка в положение 2 на последней стадии, как это было в синтезе трисахарида (XIII) из дисахарида (XVI) и бензобромфукозы (VI).

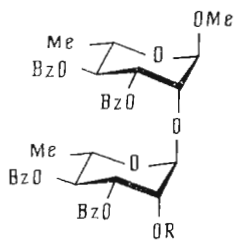


Разветвленный тетрасахарид (XXIII) был получен бис-рамнозилрованием диола (XXI), образующегося при кислотном гидролизе ацетонида (XX) [18]. Как и в случае синтеза трирамнозида (VII), гликозилрование диола (XXI) не вызывало сложности — тетрасахарид (XXII) образовывался с достаточно высоким выходом (77%), считая на исходное изопропилиденное производное (XX).

Синтезированные защищенные производные (VII), (IX), (XI), (XIII) и (XXII) дезацилированием с помощью метилата натрия в абс. метаноле



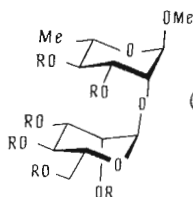
(XXVII) R=Bz
(XXVIII) R=H



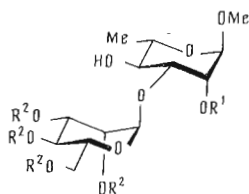
(XXV) R=Ac
(XXVI) R=H

были переведены в целевые свободные олигосахариды (VIII), (X), (XII), (XIV) и (XXIII).

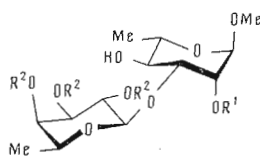
Для выявления конформационных особенностей рассматриваемых разветвленных олигосахаридов необходимо было располагать данными для (1—2)- и (1—3)-связанных дисахаридов (XIX) и (XXXIV), фрагментов трисахаридов (XIV), и дисахаридов (XXX) и (XXXII), фрагментов трисахаридов (X). Аналогичные дисахариды, содержащие невосстанавливающие остатки α -L-рамнопиранозы и β -D-глюкопиранозы в положении 2 или 3 метил- α -L-рамнопиранозиды, которые можно рассматривать как модели трисахаридов (VIII) и (XII), были изучены ранее [1, 19, 20]. Для исследования тетрасахарида (XXIII) необходимыми моделями представлялись трисахариды (VIII) и (XXVIII), в которых центральный остаток α -L-рамнопиранозы содержит два винциальных объемистых заместителя (в положениях 2, 3 и 1, 2 соответственно).



(XXIX) R=Bz
(XXX) R=H



(XXXI) R¹=Ac, R²=Bz
(XXXII) R¹=R²=H



(XXXIII) R¹=Ac, R²=Bz
(XXXIV) R¹=R²=H

В качестве предшественников указанных свободных олигосахаридов использовались защищенные производные (1—3)-связанных олигосахаридов (XXXI) и (XXXIII) (их синтез будет описан отдельно), (1—2)-связанных дисахаридов (XVIII) и (XXIX) и трисахаридов (XXVII). Трисахарид (XXVII) был получен из соединения (II) путем ступенчатого наращивания трисахаридной цепи. Первым гликозил-донором служил гликозилбромид (XXIV) [16], содержащий в положении 2 ацетильную группу. Продукт гликозилирования по Гельфериху, биоид (XXV), подвергали мягкому кислотному метанолизу [21], в результате которого был получен гликозил-акцептор (XXVI) с общим выходом 86%. Его гликозилирование бензобромманнозой протекало гладко и приводило к целевому производному (XXVII) с выходом 83%. Биоид (XXIX) был получен гликозилированием моногидроксильного производного (II) с помощью бензобромманнозы (IV) в условиях реакции Гельфериха. Маннозилирование акцеп-

Данные спектров ^1H -ЯМР защищенных производных (VI), (XVI)–(XVIII), (XXVI), (XXIX) и 1,2,3,4-тетра-*O*-бензоил-*L*-фукопиранозы (XXXV) (CDCl_3 ; δ , м. д.; J Гц, 20°C)

Соединение	Остаток*	H1	H2	H3	H4	H5	H6	OCH ₂	$J_{1,2}$	$J_{2,3}$	$J_{3,4}$	$J_{4,5}$	$J_{5,6}$
(VI)		6,95	5,63	6,03	5,85	4,70	1,38		3,8	10,5	3,4	1,1	6,4
(XVI)	В	4,68	3,86	4,20	5,38	3,91	1,28	3,37	1,7	3,5	9,5	9,5	6,2
	Н	4,86	5,62	5,46	5,44	3,78	0,80		7,6	10,3	3,2	1,0	6,2
(XVII)	В	4,88	4,39	5,68	5,76	4,11	1,42	3,53	2,1	2,9	10,0	9,1	6,2
	Н	5,33	5,92	5,95	5,86	4,59	1,29		3,5	7,0	3,0	1,0	6,5
(XVIII)	В	4,55	4,41	5,47	5,59	3,91	1,16	3,25	1,9	3,4	10,2	9,5	6,2
	Н	4,73	5,77	5,46	5,58	3,82	0,80		8,1	11,0	3,5	1,1	6,5
(XXVI)	В	4,90	4,34	5,72	5,63	4,12	1,41	3,50	1,8	2,9	9,9	9,0	6,1
	Н	5,06	4,46	5,76	5,61	4,26	1,32		1,7	3,0	9,6	9,6	6,0
(XXIX)	В	4,91	4,55	5,75	5,75	4,16	1,45	3,48	1,6	2,6	10,5	9,4	6,2
	Н**	5,27	5,85	6,02	6,12	4,46	3,79		1,6	3,1	9,8	9,8	3,5
(XXXV)	α	6,90	6,01	6,11	5,92	4,66	1,34		3,5	10,7	3,0	1,1	6,5
	β	6,24	***	5,74	5,83	4,38	1,41		8,2	10,0	3,5	1,1	6,4

* В — «восстанавливающий» остаток, Н — невосстанавливающий остаток.

** $\delta_{\text{H}6}$ 4,08 м. д.; $J_{5,6}$ 2,5 Гц, $J_{6,6'}$ 12,3 Гц.

*** Точное положение сигнала H2 не установлено.

тора (II) в отличие от фукозилирования (см. выше) протекало эффективно и стереоспецифично, выход производного (XXIX) составил 90%.

Как и в случае разветвленных олигосахаридов, соединения (XVIII), (XXVII), (XXIX), (XXXI) и (XXXIII) превращались в соответствующие свободные продукты при обработке метилатом натрия в метаноле. Удельное вращение и спектры ^1H - и ^{13}C -ЯМР трисахарида (XXVIII) совпали с приведенными в работе [22].

Строение всех синтезированных веществ устанавливалось с помощью спектроскопии ^1H - и ^{13}C -ЯМР (табл. 1–3), причем дисахаридные продукты анализировались до и после удаления защитных групп, а тетрасахарид (XXII) и трисахариды — после дезацилирования. Отнесение сигналов в спектрах ^1H -ЯМР дисахаридов проводилось с помощью двойного гомоядерного резонанса, а спектров ^1H -ЯМР трисахаридов и тетрасахарида (XXIII) — с помощью двумерной корреляционной спектроскопии (^1H — ^1H COSYRST). Сигналы в спектрах ^{13}C -ЯМР дисахаридов относились с использованием двойного гетероядерного резонанса, а в спектрах трисахаридов и тетрасахарида (XXIII) — с помощью двумерной ^1H - ^{13}C -корреляционной спектроскопии (HNCORRD). В качестве иллюстрации на рис. 1 и 2 приведены спектры двумерной корреляционной спектроскопии ЯМР, полученные для трисахарида (VIII).

Конфигурация аномерных центров *L*-фукопиранозильных и *D*-глюкопиранозильных остатков следовала из характерного расположения соответствующих C1 сигналов в спектрах ^{13}C -ЯМР и из величин констант спин-спинового взаимодействия (KCCSB) $J_{\text{H}1, \text{H}2}$ в спектрах ^1H -ЯМР. α -Конфигурация манно- и рамнопиранозильных звеньев подтверждалась характерным расположением сигналов C5 в спектрах ^{13}C -ЯМР незащищенных олигосахаридов.

При определении строения трисахарида (XV) нами привлечены данные по KCCSB $J_{\text{C}1, \text{H}1}$. Так, в спектре ^{13}C -ЯМР этого соединения, измеренного без подавления СН-взаимодействий, в области сигналов аномерных углеродов имелась три дублета (δ 102,3 м. д., J 158,7 Гц; δ 100,1 м. д., J 173,3 Гц; δ 98,9 м. д., J 173,3 Гц), из которых только один, наиболее слабopольный, имел KCCSB, свойственную β -гликозидам. Это свидетельствовало о том, что один из двух фукозильных остатков в соединении (XV) имеет β -, а второй — α -конфигурацию. Положение α -*L*-фукопиранозильного остатка в трисахариде (XV) при O2 (но не O3) рамнозного звена можно было предположить на основании факта образования этого соединения из 3-*O*- β -*L*-фукозилрамнозида (XVI). Этот вывод однозначно подтверж-

Данные спектров ^{13}C -ЯМР свободных олигосахаридов (VIII), (X), (XII), (XIV), (XIX), (XXIII), (XXVIII), (XXX), (XXXII) и (XXXIV) (D_2O)

Соединение	Остаток	C1	C2	C3	C4	C5	C6	OCH_3
(VIII)	α -L-Rha-(1 → 2)	103,05	71,6	71,45	73,4	70,75	18,1	
	α -L-Rha-(1 → 3)	103,6	71,45	71,6	73,3	70,55	18,0	
	α -L-Rha-OMe	100,9	78,8	78,8	73,3	70,2	18,1	56,3
(X)	α -D-Man-(1 → 2)	99,5	71,65	71,65	67,85	74,5	62,2	
	α -D-Man-(1 → 3)	97,95	71,75	71,9	67,85	74,0	62,2	
	α -L-Rha-OMe	98,9	72,15	74,7	71,75	70,1	18,15	56,35
(XII)	β -D-Glc-(1 → 2)	105,3	74,75	77,0	70,8	77,2	62,0	
	β -D-Glc-(1 → 3)	105,1	74,8	77,0	70,9	77,2	62,0	
	α -L-Rha-OMe	101,3	80,0	81,0	72,5	69,8	18,1	56,25
(XIV)	β -L-Fuc-(1 → 2)	103,45	71,85	74,2	72,7	72,6	16,9	
	β -L-Fuc-(1 → 3)	103,0	71,65	74,2	72,7	72,5	16,8	
	α -L-Rha-OMe	100,0	76,0	79,05	71,95	69,95	18,05	56,1
(XIX)	β -L-Fuc-(1 → 2)	103,7	71,7	74,05	72,65	72,3	16,8	
	α -L-Rha-OMe	100,45	79,2	70,9	73,95	69,9	17,9	56,2
	α -L-Rha-(1 → 2)	103,05	71,6	71,55	73,7	70,6	18,2	
(XXIII)	α -L-Rha-(1 → 3)	103,6	71,5	71,7	73,45	70,85	18,1	
	→ 2,3)- α -L-Rha-(1 → 2)	102,0	78,6	78,55	73,3	71,0	18,2	
	α -L-Rha-OMe	101,0	79,5	71,55	73,35	70,1	18,1	56,3
(XXVIII)	α -L-Rha-(1 → 2)	103,6	71,4	71,4	73,35	70,65	18,0	
	→ 2)- α -L-Rha-(1 → 2)	102,2	79,65	71,15	73,45	70,5	18,0	
	α -L-Rha-OMe	101,0	79,55	71,4	73,45	70,0	18,0	56,2
(XXX)	α -D-Man-(1 → 2)	99,5	71,7	71,7	68,1	74,2	62,3	
	α -L-Rha-OMe	99,1	76,0	70,9	73,4	70,05	18,0	56,25
(XXXII)	α -D-Man-(1 → 3)	97,5	71,6	71,75	67,85	73,9	62,1	
	α -L-Rha-OMe	102,05	67,2	75,45	71,6	69,75	18,05	56,1
(XXXIV)	β -L-Fuc-(1 → 3)	102,35	71,9	74,2	72,7	72,4	16,8	
	α -L-Rha-OMe	101,95	69,2	79,7	71,9	69,65	18,15	56,15

ден нами при изучении спектров ЯМР продукта дебензоилирования соединения (XV), в частности на основании величин ЯЭО, наблюдавшихся на кольцевых протонах остатка рамнозы после селективного предоблучения аномерного протона каждого из фукозных остатков. Эти данные будут опубликованы в сообщении, посвященном синтезу бис-гликозилированных производных метил- α -L-рамнопиранозида с неодинаковыми моносахаридными заместителями при O2 и O3.

Наличие свободной OH-группы в дисахариде (XVI) при C2, а в дисахариде (XXVI) при C2' следовало из сильнополюсного расположения в их спектрах ^1H -ЯМР сигналов соответственно протонов H2 и H2' и наличия у этих сигналов увеличенной мультиплетности за счет спин-спинового взаимодействия с протоном гидроксила, легко устранивающегося с помощью дейтерирования.

Подробное экспериментальное и теоретическое изучение конформаций синтезированных олигосахаридов, а также эффектов гликозилирования в их спектрах ^{13}C -ЯМР является предметом следующего сообщения данной серии [23].

Экспериментальная часть

Температуру плавления определяли на столике Кофлера. Оптическое вращение измеряли на цифровом поляриметре DIP-360 (JASCO) с использованием в качестве растворителя воды в случае свободных олигосахаридов и хлороформа в случае защищенных производных. Спектры ^1H -ЯМР измерены на приборе Bruker WM-250, а спектры ^{13}C -ЯМР — на приборе Bruker AM-300; в случае защищенных производных использовались растворы в дейтерохлороформе (внутренний стандарт — тетраметилсилан (TMC)), а спектры свободных олигосахаридов снимали в D_2O с использованием в качестве стандарта ацетона (δ_{CH_3} , 2,225 м. д., δ_{CH} , 31,45 м. д. относительно TMC). При съемке спектров ^1H -ЯМР защищен-

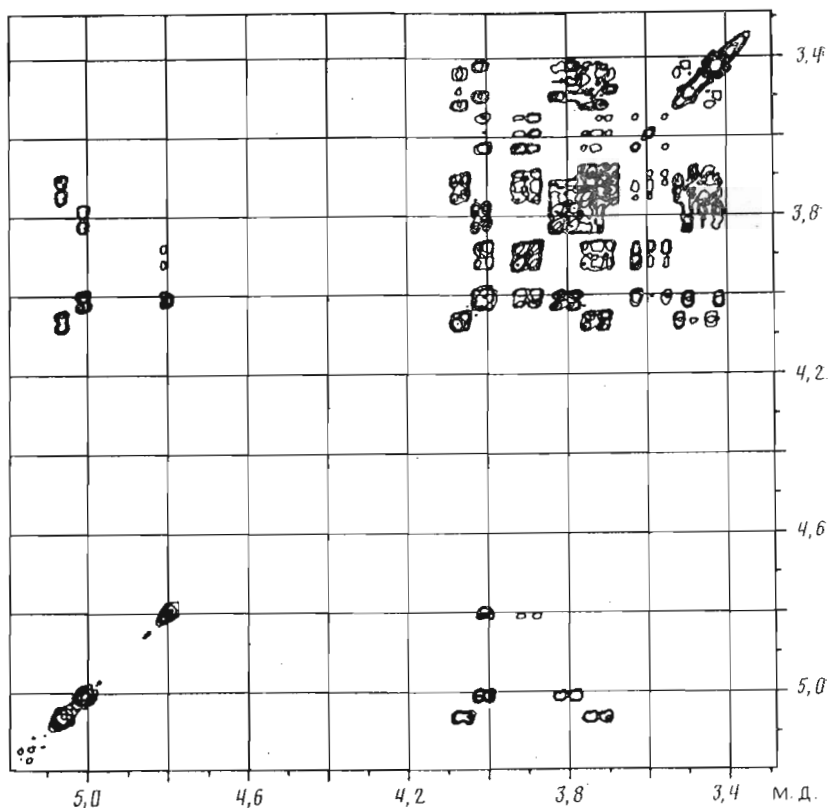


Рис. 1. Двумерный корреляционный спектр ^1H — ^1H COSYRCT трисахарида (VIII)

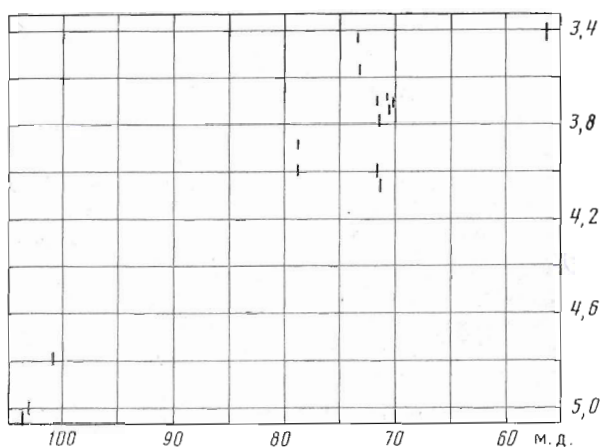


Рис. 2. Двумерный корреляционный спектр ^1H — ^{13}C трисахарида (VIII)

ных производных со свободной гидроксильной группой для исключения дополнительного увеличения мультиплетности сигналов кольцевых протонов за счет спин-спинового взаимодействия с протоном гидроксильной группы растворы образцов в дейтерохлороформе встряхивали в ампулах для съемки спектров ^1H -ЯМР с $\sim 0,1$ мл D_2O ; спектр записывался после полного расслоения получившейся смеси.

Отнесение сигналов в одномерных спектрах ^1H -ЯМР свободных трисахаридов и тетрасахарида (XXIII) (табл. 2) проводили с использованием данных их двумерных спектров ^1H — ^1H COSYRCT, полученных с использованием стандартной программы COSYRCT фирмы Bruker для компьютера Aspect-2000. Для регистрации спектров COSYRCT проводилась последовательность задержек и импульсов $\text{D1} - 90^\circ - t_1 - 90^\circ - \text{D2} - 180^\circ - \text{D2} - 90^\circ - \text{спад}$ индуцированного сигнала (СИС), где

$D1 = 1$, а $D2 = 33$ мс ($D2 = 1/4J$; $J = 7,5$ Гц). Использовались 256 эквидистантных значений периода эволюции (t_i) в диапазоне 0,003—208 мс с шагом 0,814 мс. Ширина спектра по координатам f_1 и f_2 500 Гц (исследовалась только область кольцевых протонов), размер матрицы 512×512 точек, разрешение 2 Гц на точку по обеим координатам. Перед фурье-преобразованием СИС умножали на синусоидальную функцию с нулевым сдвигом. После фурье-преобразования матрица симметризовалась относительно диагонали. Типичный спектр ^1H — ^1H COSYRCT приведен на рис. 1.

Двумерные спектры ^1H — ^{13}C -корреляционной спектроскопии получены с использованием программы ХНСORRD для компьютера Aspect-3000. Для регистрации спектров устанавливались спектральные окна в 500 Гц для ^1H и 5000 Гц для ^{13}C , соответствующие областям резонансных частот кольцевых протонов и углеродов. Матрицы спектров имели размер 256×2048 точек, а времена задержек $D3 = 3,2$ мс и $D4 = 1,6$ мс были оптимизированы для КССВ $^1J = 155$ Гц. Перед фурье-преобразованием СИС умножались на квадратичную синусоидальную функцию с нулевым сдвигом. Типичный двумерный ^1H — ^{13}C -корреляционный спектр приведен на рис. 2.

Ацетонитрил перегоняли над P_2O_5 и затем над CaH_2 . Нитрометан перегоняли над мочевиной (100 мм рт. ст.), дважды над P_2O_5 и далее над CaH_2 . Хлороформ сушили CaCl_2 и перегоняли над P_2O_5 . Для всех опытов использовали свежеперегнанные растворители.

Цианид и бромид ртути(II) — препараты фирмы Merck. Трифлат серебра получен как описано в [24]. Тетра-*N*-метилмочевину перегоняли и затем хранили над молекулярными ситами 3 А.

Хроматографию в тонком слое проводили на пластинках с силикагелем Kieselgel 60 (Merck), вещества обнаруживали опрыскиванием 50—70% H_2SO_4 с последующим нагреванием при $\sim 150^\circ\text{C}$. Системы растворителей для ТСХ: этилацетат — толуол, 1 : 7 (А); этилацетат — толуол, 1 : 1 (Б); этилацетат — гептан, 1 : 1 (В). Колоночную хроматографию выполняли на силикагеле L 40/100 мкм (ЧСФР), используя градиентное элюирование от бензола к этилацетату (система Г) или от гептана к этилацетату (система Д).

Получение бензобромсахаров (III)–(VI). Синтез 2,3,4,6-тетра-*O*-бензоил- α -*D*-глюко- и α -*D*-маннопиранозилбромидов (V) и (IV) проводили из соответствующих пентабензоатов в условиях получения бензобромгалактозы [17]. Бензобромрамноза синтезирована как описано в работе [16]. Аналогично, действуя раствором HBr в хлороформе на 1,2,3,4-тетра-*O*-бензоил-*L*-фукопиранозу (XXXV), получали бромид (VI). Тетрабензоат (XXXV) приготовлен исчерпывающим бензоилированием *L*-фукозы в обычных условиях (VzCl , Py , 20°C), выход количественный, соотношение α - и β -изомеров 5 : 1. Спектры ^1H -ЯМР соединений (VI) и (XXXV) приведены в табл. 1. Бромиды (III)–(VI), образующиеся с выходами, близкими к количественным, использовались в гликозидных синтезах сразу после получения без специальной очистки.

*Метил-4-*O*-бензоил-2,3-бис-*O*-(2,3,4-три-*O*-бензоил- α -*L*-рамнопиранозил)- α -*L*-рамнопиранозид (VII)*. К раствору 135 мг (0,48 ммоль) диола (I) [16], 505 мг (2 ммоль) цианида ртути и 100 мг бромиды ртути в 10 мл ацетонитрила при перемешивании по каплям в течение 1 ч прибавляли раствор 1,078 г (2 ммоль) бензобромрамнозы (III) в 10 мл ацетонитрила. Реакционную смесь перемешивали 1 ч, концентрировали и распределяли между 70 мл хлороформа и 70 мл насыщенного водного раствора KBr . Органический слой отделяли, промывали еще раз раствором KBr и водой, фильтровали через слой ваты, концентрировали и из остатка колоночной хроматографией (система Г) выделяли 563 мг трисахарида (VII). Выход 98%, сироп, $[\alpha]_D^{25} +178,8^\circ$ (с 0,9), R_f 0,42 (А).

*Метил-4-*O*-бензоил-2,3-бис-*O*-(2,3,4,6-тетра-*O*-бензоил- α -*D*-маннопиранозил)- α -*L*-рамнопиранозид (IX)*. В условиях синтеза трисахарида (VII) из 141 мг (0,5 ммоль) диола (I) и 1,318 мг (2 ммоль) бензобромманнозы (IV)

получали 640 мг трисахарида (IX). Выход 89%, сироп, $[\alpha]_D^{28} +32,1^\circ$ (с 1,0), R_f 0,45 (A).

Метил-4-О-бензоил-2,3-бис-О-(2,3,4,6-тетра-О-бензоил-β-D-глюкопиранозил)-α-L-рамнопиранозид (XI). Из 135 мг (0,48 ммоль) диола (I) и 1,318 г (2 ммоль) бензобромглюкозы (V) в условиях синтеза трисахарида (VII), (по мере нагревания при 60–70° С, получали трисахарид (XI), который дополнительно очищали рехроматографией в системе Д. Выход 480 мг (70%), сироп, $[\alpha]_D^{29} +26,5^\circ$ (с 1,65), R_f 0,45 (A).

Гликозилирование бромидом (VI) диола (I). В условиях синтеза трисахарида (VII) из 141 мг (0,5 ммоль) диола (I) и 809 мг (1,5 ммоль) бромида (VI) получали 290 мг трисахарида (XV) и 150 мг дисахарида (XVI). (XV): выход 48%, т. пл. 164–167° С (этилацетат — гексан), $[\alpha]_D^{29} -202,1^\circ$ (с 0,7), R_f 0,18 (A) и 0,46 (B, трехкратное элюирование). Найдено, %: С 68,34; Н 4,87. $C_{68}H_{62}O_{20}$. Вычислено, %: С 68,11; Н 5,21. (XVI): выход 40%, сироп, $[\alpha]_D^{25} -127,8^\circ$ (с 0,7), R_f 0,20 (A). Спектр ¹H-ЯМР дисахарида (XVI) приведен в табл. 1.

Гликозилирование рамнозида (II) бромидом (VI). а) В условиях синтеза трисахарида (VII) из 309 мг (0,8 ммоль) спирта (II) и 862 мг бензобромфукозы (VI) получали 390 мг дисахарида (XVII). Выход 58%, сироп, $[\alpha]_D^{28} -203,0^\circ$ (с 1,0), R_f 0,48 (A). По данным ТСХ, в реакционной смеси содержалось незначительное количество дисахарида (XVIII) (R_f 0,35 (A)), который не выделялся.

б) К смеси 386 мг (1,0 ммоль) спирта (II), 514 мг (2 ммоль) трифлата серебра, 180 мкл (~2 ммоль) тетра-N-метилмочевины и 2 г измельченных молекулярных сит 4 Å в 10 мл нитрометана в атмосфере аргона при –20 ÷ –25° С при перемешивании за 1 ч по каплям прибавляли раствор 1,078 г (2 ммоль) бромида (VI) в 20 мл нитрометана. Реакционную смесь перемешивали при прежней температуре 1 ч, а затем еще 1 ч при 20° С. Далее разбавляли 80 мл хлороформа, фильтровали через слой целита, промывали 5% водным раствором $Na_2S_2O_3$ (2 × 50 мл) и снова водой (2 × 50 мл). Органический слой отделяли, фильтровали через слой ваты, концентрировали и из остатка колоночной хроматографией (система Д) выделяли 250 мг дисахарида (XVII) (выход 30%) и 270 мг его изомера (XVIII) (выход 32%, сироп, $[\alpha]_D^{28} +15,0^\circ$ (с 2,0), R_f 0,35 (A)). Спектры ¹H-ЯМР дисахаридов (XVII) и (XVIII) приведены в табл. 1.

Гликозилирование дисахарида (XVI) бромидом (VI). В условиях взаимодействия соединений (II) и (VI) (опыт «б») из 518 мг (0,7 ммоль) моногидроксильного производного (XVI) и 755 мг (1,4 ммоль) бромида (VI) получали изомерные трисахариды (XIII) (120 мг) и (XV) (560 мг, выход 67%) и 80 мг их смеси (~1 : 1). (XIII): выход 14%, сироп, $[\alpha]_D^{28} -137,0^\circ$ (с 1,0), R_f 0,48 (B, трехкратное элюирование).

Метил-3,4-ди-О-ацетил-2-О-[4-О-ацетил-2,3-бис-О-(2,3,4-три-О-бензоил-α-L-рамнопиранозил)-α-L-рамнопиранозил]-α-L-рамнопиранозид (XXII). Смешивали 170 мг (0,35 ммоль) ацетонида (XX) [18] (R_f 0,51 (B)), 13 мл хлороформа и 0,6 мл 90% трифторуксусной кислоты. После окончания дезацетонирования (~20 мин, контроль с помощью ТСХ) раствор концентрировали и далее соударивали с толуолом (2 × 5 мл). Полученный диол (XXI) (R_f 0,1 (B)) действием 1,078 г (2 ммоль) бромида (III) в условиях синтеза трисахарида (VII) превращали в защищенный тетрасахарид (XXII). Выход 370 мг (77%), сироп, $[\alpha]_D^{25} +116,8^\circ$ (с 2,0), R_f 0,22 (A).

Метил-2,3-ди-О-бензоил-2-О-(3,4-ди-О-бензоил-α-L-рамнопиранозил)-α-L-рамнопиранозид (XXVI). В условиях синтеза трисахарида (VII) из 193 мг (0,5 ммоль) дибензоата (II) и 477 мг (1,0 ммоль) бромида (XXIV) [16] получали 2-О-ацетилированный дисахарид (XXV) (R_f 0,44 (A)), который выделяли колоночной хроматографией в системе А. Полученный продукт растворяли в 5 мл хлороформа и подвергали дезацетилированию действием раствора HCl в MeOH (получен при смешении 10 мл абс. метанола и 0,4 мл ацетилхлорида [21]) в течение 24 ч при 20° С и 17 ч при 5° С.

Реакционную смесь разбавляли 50 мл хлороформа, промывали насыщенным водным раствором NaHCO_3 и водой, далее концентрировали и из остатка колоночной хроматографией (система Г) выделяли 340 мг производного (XXVI). Выход 86%, сироп, $[\alpha]_D^{24} +99,9^\circ$ (с 1,0), R_f 0,20 (А). Спектр $^1\text{H-NMR}$ см. табл. 1.

Метил-3,4-ди-О-бензоил-2-О-[3,6-ди-О-бензоил-2-О-(2,3,4-три-О-бензоил- α -L-рамнопиранозил)- α -L-рамнопиранозил]- α -L-рамнопиранозид (XXVII). В условиях синтеза трисахарида (VII) из 300 мг (0,41 ммоль) дисахарида (XXVI) и 458 мг (0,85 ммоль) бензобромрамнозы (III) получали 410 мг продукта (XXVII). Выход 83%, сироп, $[\alpha]_D^{29} +171,0^\circ$ (с 2,0), R_f 0,50 (А).

Метил-3,4-ди-О-бензоил-2-О-(2,3,4,6-тетра-О-бензоил- α -D-маннопиранозил)- α -L-рамнопиранозид (XXIX). В условиях синтеза трисахарида (VII) из 116 мг (0,3 ммоль) производного (II) и 659 мг (1,0 ммоль) бензобромманнозы (IV) получали 260 мг дисахарида (XXIX). Выход 90%, сироп, $[\alpha]_D^{24} +45,6^\circ$ (с 2,0), R_f 0,42 (А). Спектр $^1\text{H-NMR}$ приведен в табл. 1.

Получение свободных олигосахаридов. Ацилированный продукт растворяли в 10 мл 0,1 М раствора метилата натрия в абс. метаноле и выдерживали 16–20 ч при 20°C . Раствор деионизовали катионитом КУ-2 (H^+), фильтровали и концентрировали. Остаток распределяли между 10 мл воды и 10 мл хлороформа. Водный слой отделяли, промывали хлороформом (3×10 мл) и концентрировали. Полученные метилгликозиды свободных олигосахаридов представляют собой сиропобразные вещества.

Метил-2,3-бис-О-(α -L-рамнопиранозил)- α -L-рамнопиранозид (VIII) получали из 520 мг гептабензоата (VII). Выход 192 мг (94%), $[\alpha]_D^{29} -56,8^\circ$ (с 2,0).

Метил-2,3-бис-О-(α -D-маннопиранозил)- α -L-рамнопиранозид (X) получали из 600 мг нонабензоата (IX). Выход 117 мг (94%), $[\alpha]_D^{28} +70,9^\circ$ (с 1,9).

Метил-2,3-бис-О-(β -D-глюкопиранозил)- α -D-рамнопиранозид (XII) получали из 300 мг нонабензоата (XI). Выход 98 мг (94%), $[\alpha]_D^{23} -10,0^\circ$ (с 1,1).

Метил-2,3-бис-О-(β -L-фукопиранозил)- α -L-рамнопиранозид (XIV) получали из 120 мг гептабензоата (XIII). Выход 40 мг (85%), $[\alpha]_D^{20} +14,9^\circ$ (с 1,0).

Метил-2-О-(β -L-фукопиранозил)- α -D-рамнопиранозид (XIX) получали из 250 мг пентабензоата (XVIII). Выход 75 мг (78%), $[\alpha]_D^{29} -0,1^\circ$ (с 2,0).

Метил-2-О-[2,3-бис-О-(α -L-рамнопиранозил)- α -L-рамнопиранозил]- α -L-рамнопиранозид (XXIII) получали из 370 мг продукта (XXII). Выход 118 мг (94%), $[\alpha]_D^{27} -72,9^\circ$ (с 1,0).

Метил-2-О-[2-О-(α -L-рамнопиранозил)- α -L-рамнопиранозил]- α -L-рамнопиранозид (XXVIII) получали из 330 мг гептабензоата (XXVII). Выход 78 мг (83%), $[\alpha]_D^{28} -51,5^\circ$ (с 2,0). Лит. данные [22]: $[\alpha]_D -57,7^\circ$ (с 1,0, вода).

Метил-2-О-(α -D-маннопиранозил)- α -L-рамнопиранозид (XXX) получали из 250 мг гексабензоата (XXIX). Выход 74 мг (84%), $[\alpha]_D^{28} +50,4^\circ$ (с 1,3).

Метил-3-О-(α -D-маннопиранозил)- α -L-рамнопиранозид (XXXII) получали из 230 мг производного (XXXI). Выход 90 мг (92%), $[\alpha]_D^{26} +36,9^\circ$ (с 2,25).

Метил-3-О-(β -L-фукопиранозил)- α -L-рамнопиранозид (XXXIV) получали из 155 мг производного (XXXIII). Выход 66 мг (89%), $[\alpha]_D^{28} -27,5^\circ$ (с 1,0).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Lipkind G. M., Shashkov A. S., Mamyan S. S., Kochetkov N. K. // Carbohydr. Res. 1988. V. 181. № 1. P. 1—12.
2. Lipkind G. M., Shashkov A. S., Knirel Yu. A., Vinogradov E. V., Kochetkov N. K. // Carbohydr. Res. 1988. V. 175. № 1. P. 59—75.
3. Knirel Yu. A., Kocharova N. A., Shashkov A. S., Kochetkov N. K. // Carbohydr. Res. 1989. V. 188. № 1. P. 145—155.
4. Книрель Ю. А., Шашков А. С., Солдаткина М. А., Парамонов Н. А., Захарова И. Я. // Биоорган. химия. 1988. Т. 14. № 9. С. 1208—1213.
5. Kochetkov N. K., Shashkov A. S., Lipkind G. M., Knirel Yu. A. // Soviet Sci. Rev. 1989. V. 13. Part 2. P. 1—73.
6. Jansson P.-E., Kenne L., Widmalm G. // Carbohydr. Res. 1987. V. 168. № 1. P. 67—77.
7. Jansson P.-E., Kenne L., Widmalm G. // Carbohydr. Res. 1989. V. 188. № 1. P. 169—191.
8. Липкинд Г. М., Шашков А. С., Нечаев О. А., Торгов И. В., Шибеев В. Н., Кочетков Н. К. // Биоорган. химия. 1989. Т. 15. № 10. С. 1366—1374.
9. Липкинд Г. М., Шашков А. С., Кочетков Н. К. // Биоорган. химия. 1989. Т. 15. № 11. С. 1534—1537.
10. Baumann H., Erbing B., Jansson P.-E., Kenne L. // J. Chem. Soc. Perkin Trans 1. 1989. № 12. P. 2153—2165.
11. Baumann H., Erbing B., Jansson P.-E., Kenne L. // J. Chem. Soc. Perkin Trans 1. 1989. № 12. P. 2167—2178.
12. Липкинд Г. М., Шашков А. С., Нечаев О. А., Торгов И. В., Шибеев В. Н., Кочетков Н. К. // Биоорган. химия. 1989. Т. 15. № 5. С. 656—669.
13. Липкинд Г. М., Шашков А. С., Нечаев О. А., Торгов И. В., Шибеев В. Н., Кочетков Н. К. // Биоорган. химия. 1989. Т. 15. № 5. С. 670—680.
14. Jansson P.-E., Kenne L., Widmalm G. // Carbohydr. Res. 1989. V. 193. № 2. P. 322—325.
15. Vock K., Guzman J. F.-B. // Carbohydr. Res. 1988. V. 179. № 1. P. 97—124.
16. Байрамова Н. Э., Бакиновский Л. В., Кочетков Н. К. // Изв. АН СССР. Сер. хим. 1985. № 5. С. 1122—1128.
17. Нифантьев Н. Э., Бакиновский Л. В., Кочетков Н. К. // Биоорган. химия. 1987. Т. 13. № 7. С. 977—991.
18. Нифантьев Н. Э., Бакиновский Л. В., Кочетков Н. К. // Биоорган. химия. 1990. Т. 16. № 10. С. 1402—1406.
19. Мамян С. С., Липкинд Г. М., Шашков А. С., Байрамова Н. Э., Николаев А. В., Кочетков Н. К. // Биоорган. химия. 1988. Т. 14. № 2. С. 205—215.
20. Липкинд Г. М., Шашков А. С., Книрель Ю. А., Кочетков Н. К. // Биоорган. химия. 1986. Т. 12. № 6. С. 771—779.
21. Vyatova N. E., Ovchinnikov M. V., Vackinowsky L. V., Kochetkov N. K. // Carbohydr. Res. 1983. V. 124. № 2. P. C8—C11.
22. Pozsgay V., Brisson J.-R., Jennings H. // Can. J. Chem. 1987. V. 65. № 12. P. 2764—2769.
23. Lipkind G. M., Nifant'ev N. E., Shashkov A. S., Kochetkov N. K. // Can. J. Chem. 1990. V. 68. № 7. P. 1238—1250.
24. Russell D. G., Senior J. B. // Can. J. Chem. 1980. V. 58. № 1. P. 22—29.

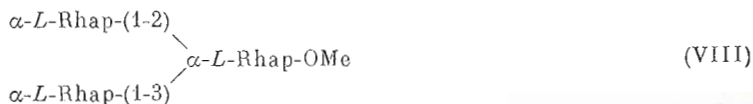
Поступила в редакцию
18.V.1990

N. E. NIFANT'EV, L. V. BACKINOWSKY, G. M. LIPKIND, A. S. SHASHKOV,
N. K. KOCHETKOV

SYNTHESIS AND NMR AND CONFORMATIONAL STUDIES OF BRANCHED
OLIGOSACCHARIDES. 1. SYNTHESIS OF BRANCHED
OLIGOSACCHARIDES CONTAINING IDENTICAL MONOSACCHARIDE
SUBSTITUENTS AT O2 AND O3 OF THE α -L-RHAMNOPYRANOSE
RESIDUE

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

Within a programme of spectral (NMR) and conformational studies of 2,3-bis-O-glycosylated derivatives of α -L-rhamnopyranose the following oligosaccharides were synthesized.



α -D-Manp-(1-2)	α -L-Rhap-OMe	(X)
α -D-Manp-(1-3)		
β -D-Glcp-(1-2)	α -L-Rhap-OMe	(XII)
β -D-Glcp-(1-3)		
β -L-Fucp-(1-2)	α -L-Rhap-OMe	(XIV)
β -L-Fucp-(1-3)		
β -L-Fucp-(1-2)- α -L-Rhap-OMe		(XIX)
α -L-Rhap-(1-2)	α -L-Rhap-(1-2)- α -L-Rhap-OMe	(XXIII)
α -L-Rhap-(1-3)		
α -L-Rhap-(1-2)- α -L-Rhap-(1-2)- α -L-Rhap-OMe		(XXVIII)
α -D-Manp-(1-2)- α -L-Rhap-OMe		(XXX)
α -D-Manp-(1-3)- α -L-Rhap-OMe		(XXXII)
β -L-Fucp-(1-3)- α -L-Rhap-OMe		(XXXIV)

For these compounds the ^1H and ^{13}C NMR spectra were obtained and interpreted. Signals in spectra of oligosaccharides (VIII), (X), (XII), (XIV), (XXIII), and (XXVIII) were assigned with the use of 2D correlation spectroscopy ^1H - ^1H COSYRCT and ^1H - ^{13}C .