



УДК 543.422.25 : 547.458.057 : 577.114.012

© 1994 Н. Э. Нифантьев, А. С. Шашков, Е. А. Хатунцева,
Ю. Е. Цветков, А. А. Шерман, Н. К. Кочетков

СИНТЕЗ И ИССЛЕДОВАНИЕ СПЕКТРОВ ЯМР И КОНФОРМАЦИЙ
РАЗВЕТВЛЕННЫХ ОЛИГОСАХАРИДОВ
15°. 2,3-Ди-О-ГЛИКОЗИЛИРОВАННЫЕ
МЕТИЛ- α -L-РАМНОПИРАНОЗИДЫ С ОДНИМ ИЛИ ДВУМЯ
2-АЦЕТАМИДО-2-ДЕЗОКСИ- β -D-ГЛЮКОПИРАНОЗИЛЬНЫМИ
ОСТАТКАМИ

Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского РАН, Москва

Ключевые слова: спектроскопия ^{13}C -ЯМР, олигосахариды разветвленные, отклонения от аддитивности в спектрах ЯМР.

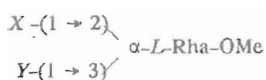
Для исследования спектральных (^{13}C -ЯМР) особенностей разветвленных по вицинальным положениям олигосахаридов синтезирована группа 2,3-ди-О-гликозилированных производных метил- α -L-рамнопиранозида, содержащих в качестве одного или обоих заместителей 2-ацетамидо-2-дезоксид- β -D-глюкопиранозильный остаток. Для исследуемых трисахаридов определены величины отклонений от аддитивности ($\Delta\Delta$) химических сдвигов атомов углерода в спектрах ^{13}C -ЯМР и показано, что в случае соединений, содержащих остаток GlcNAc при O2 дизамещенной рамнозы, наблюдаемые величины $\Delta\Delta$ могут отличаться от таковых для трисахаридов с β -D-глюкопиранозильными заместителями.

В рамках программы по синтезу и исследованию особенностей спектров ЯМР и конформаций разветвленных олигосахаридов, осуществляемой с целью дальнейшего развития компьютерного метода установления строения разветвленных полисахаридов [2—4], нами изучалась широкая серия 2,3-ди-О-гликозилированных производных метил- α -L-рамнопиранозида, относящихся к группе трисахаридов с 2-аксиально,3-эквиаториальным разветвлением. Было найдено, что в спектрах ^{13}C -ЯМР ряда трисахаридов, моносахаридные заместители в которых пространственно сближены, могут наблюдаться отклонения от аддитивности величин химических сдвигов атомов углерода. На основании теоретических и экспериментальных конформационных исследований, проведенных с привлече-

* Сообщение 14 см. [1].

Использованы сокращения: Phт — фталоил, Вп — бензил.

нием молекулярно-механических расчетов и экспериментов по ядерным эффектам Оверхаузера [5, 6], было показано, что возникновение отклонений от аддитивности связано с конформационными различиями между трисахаридами и свободными дисахаридами, соответствующими дисахаридным фрагментам. Нами исследовалась зависимость величин отклонения от аддитивности ($\Delta\Delta$) от аномерной и абсолютной конфигураций моносахаридных заместителей [5, 6], а также конфигураций их C2—C4-атомов [7]. Данная работа посвящена изучению отклонений от аддитивности в спектрах трисахаридов (1)—(5), содержащих 1 или 2 2-ацетиамидо-2-дезоксид- β -D-глюкопиранозильных остатка, и сравнению величин $\Delta\Delta$ для этих соединений с таковыми для соответствующих трисахаридов (6)—(10), содержащих остатки Glc вместо GlcNAc.



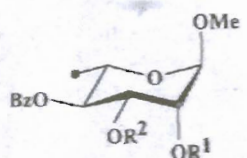
X	Y	X	Y
(1) β -D-GlcNAc	β -D-GlcNAc	(6) β -D-Glc	β -D-Glc
(2) β -D-GlcNAc	α -L-Rha	(7) β -D-Glc	α -L-Rha
(3) α -D-Glc	β -D-GlcNAc	(8) α -D-Man	β -D-Glc
(4) α -L-Rha	β -D-GlcNAc	(9) α -L-Rha	β -D-Glc
(5) β -D-GlcNAc	α -D-Glc	(10) β -D-Glc	α -D-Man

Это исследование проведено с целью выяснения вопроса о правомочности перенесения величин $\Delta\Delta$, полученных для олигосахаридов, построенных из остатков нейтральных моносахаридов, на случаи стереохимически подобных [8] трисахаридов, содержащих в качестве заместителя остаток аминсахара. Выбор трисахаридов (2)—(5) в качестве моделей для данной работы определен тем, что разветвленные фрагменты такого типа присутствуют в природных полисахаридах. Например, соединения (2)—(4) являются метилгликозидами разветвленных трисахаридных фрагментов O-специфических полисахаридов *Vibrio fluvialis* [9], *Haemophilus pleuropneumoniae* серотипа I [10] и полисахарида клеточной стенки стрептококков группы A [11] соответственно. Трисахаридный разветвленный фрагмент, такой же, как в соединении (5), встречается в целом ряде O-специфических полисахаридов, например в O-антигенах *Escherichia coli* O4 [12], а также *Shigella flexneri*, типы X и 5a [13].

Синтез трисахаридов (5) и его спектр ^{13}C -ЯМР были описаны ранее [14]. Бисглюкозаминид (1) получен из защищенного предшественника (11) [15] гидролизом и последующим N-ацелированием. Гликозилированием дисахаридов (14) [16] и (16) [7] с помощью глюкозаминилбромида (18) были синтезированы защищенные трисахариды (15) и (17), которые затем были переведены в свободные N-ацелированные производные (2) и (3) соответственно.

Для получения трисахаридов (4) проводилось гликозилирование метил-2-O-ацетил-4-O-бензоил- α -L-рамнопиранозидом (20) [17] бензоилированным глюкозаминилбромидом (19) [17] в условиях реакции Гельфериха. Образующийся дисахарид (21) был переведен в моногидроксильное производное (22) с помощью мягкого метанолиза [18]. Гликозилированием соединения (22) бензобромрамнозой (23) далее был получен защищенный трисахарид (24), удаление ацильных заместителей в котором и последующее N-ацелирование приводили к целевому трисахариду (4).

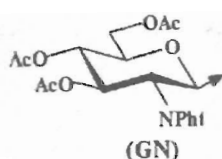
Как и ранее [7, 19—21], структуры синтезированных в этой работе трисахаридов, и прежде всего конфигурации вновь образовавшихся гликозидных связей, были подтверждены с помощью спектроскопии ^1H - и ^{13}C -ЯМР после удаления защитных групп (табл. 1 и 2). Отнесение сигналов в спектрах ^1H -ЯМР проводилось с помощью двумерной гомоядерной спектроскопии, а в спектрах ^{13}C -ЯМР — с помощью двумерной гетероядерной спектроскопии. Условия съемки одно- и дву-



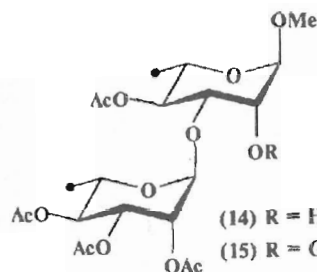
(11) $R^1 = R^2 = GN$

(12) $R^1 = H, R^2 = GN$

(13) $R^1 = GN, R^2 = H$

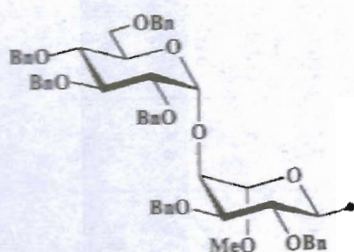


(GN)



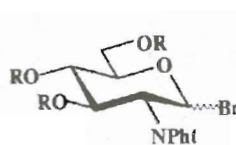
(14) $R = H$

(15) $R = GN$



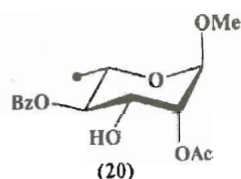
(16) $R = H$

(17) $R = GN$

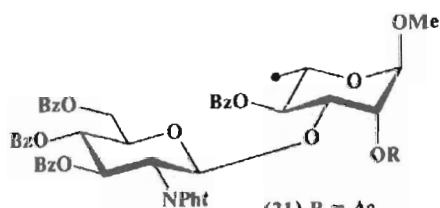


(18) $R = Ac$

(19) $R = Bz$

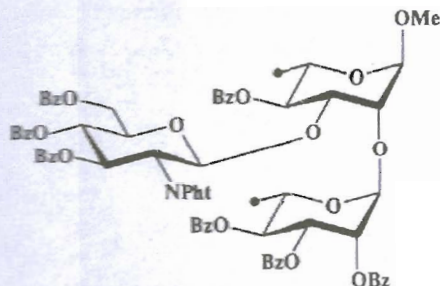


(20)

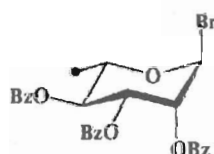


(21) $R = Ac$

(22) $R = H$



(24)



(23)

мерных спектров ЯМР подробно описаны в предыдущих сообщениях данной серии [5, 19, 22].

Нами были также синтезированы дисахариды (25) и (28), данные спектров которых необходимы для расчета величин $\Delta\Delta$ в спектрах ^{13}C -ЯМР трисахаридов (1)–(5). Спектры остальных (1 \rightarrow 2)- и (1 \rightarrow 3)-связанных дисахаридов — соединений (26), (27), (29) и (30) были описаны ранее [7, 19].

X-(1 \rightarrow 2)- α -L-Rha-OMe

(25)

(26)

(27)

X

β -D-GlcNAc

α -D-Glc

α -L-Rha

X-(1 \rightarrow 3)- α -L-Rha-OMe

(28)

(29)

(30)

Величины $\Delta\Delta$, наблюдаемые в спектрах ^{13}C -ЯМР соединений (1)–(5), приведены в табл. 3, в которую также включены и данные для исследовавшихся

Данные спектров ¹Н-ЯМР трисахаридов (1)–(4) и дисахаридов (25) и (26) (D₂O, δ, м. д.; J, Гц)

Соединение	Остаток	H1	H2	H3	H4	H5	H6a	H6b	OMe	J _{1,2}	J _{2,3}	J _{3,4}	J _{4,5}	J _{5,6a}	J _{5,6b}	J _{6a,6b}
(1)	βDGlNAc(1–2)	4,85	3,68	3,51	3,35–3,47		3,70–3,92			8,5	9,5	9,5				
	βDGlNAc(1–3)	4,57	3,75	3,52	3,35–3,47		3,70–3,92			8,5	10,0	9,5				
	>αLRha-OMe	4,72	4,19	3,70	3,27 3,58		1,22		3,34	2,0	2,5	10,0	10,0	6,5		
(2)	βDGlNAc(1–2)	4,61	3,71	3,60	3,41–3,48		3,74	3,90		8,0	10,5	8,0		5,5	2,0	12,5
	αLRha(1–3)	5,06	4,03	3,74	3,50 3,68		1,29			2,0	3,5	10,0	10,0	6,5		
	>αLRha-OMe	4,84	4,01	3,84	3,45 3,66		1,29		3,40	2,0	2,5	9,5	9,5	6,5		
(3)	αDGl(1–2)	4,99	3,51	3,74	3,46	4,12	3,87			4,0	10,0	10,0	10,0	3,5	3,5	0
	βDGlNAc(1–3)	4,73	3,65	3,48–3,60	3,41		3,74	3,93		8,5	10,5			5,5	2,0	12,5
	>αLRha-OMe	4,77	4,11	3,87	3,56 3,69		1,31		3,41	2,0	3,5	10,0	10,0	6,1		
(4)	αLRha(1–2)	5,11	4,02	3,77	3,42 3,70		1,27			2,0	3,5	10,0	9,5	6,5		
	βDGlNAc(1–3)	4,66	3,72	3,53	3,42–3,57		3,76	3,91		8,5	10,0	9,5		5,0	2,0	12,5
	>αLRha-OMe	4,70	4,14	3,81	3,49 3,67		1,27		3,38	2,0	3,5	10,0	10,0	6,5		
(25)	βDGlNAc(1–2)	4,72	3,72	3,58	3,41–3,51		3,76	3,97		8,5	10,5	9,0		6,0	2,0	12,5
	>αLRha-OMe	4,86	4,00	3,79	3,34 3,65		1,29		3,40	2,0	3,5	10,0	10,0	6,5		
(28)	βDGlNAc(1–3)	4,69	3,73	3,57	3,40–3,51		3,75	3,90		8,5	11,0	9,0		5,0	2,0	12,5
	>αLRha-OMe	4,68	4,11	3,75	3,49 3,67		1,29		3,39	2,0	3,5	10,0	10,0	6,5		

Данные спектров ^{13}C -ЯМР трисахаридов (1)–(5), дисахаридов (25)–(30) и метил- α -L-рамнопиранозида (31) (D_2O , δ , м. д.)

Соединение	Остаток	C1	C2	C3	C4	C5	C6	OMe	CH_3C
(1)	$\beta\text{DGlcNAc}(1-2)$	103,2	56,8	75,3	71,2	77,2	62,0		23,6*
	$\beta\text{DGlcNAc}(1-3)$	104,6	57,3	75,1	71,0	77,5	62,0		23,8*
	$>\alpha\text{LRha-OMe}$	101,4	78,2	82,2	72,2	70,2	18,1	56,1	
(2)	$\beta\text{DGlcNAc}(1-2)$	103,6	57,3	74,7	71,5	77,1	62,2		23,8
	$\alpha\text{LRha}(1-3)$	103,3	71,5	71,9	73,5	70,5	18,0*		
	$>\alpha\text{LRha-OMe}$	101,5	78,8	77,7	73,6	70,3	17,9*	56,1	
(3)	$\alpha\text{DGlc}(1-2)$	98,6	70,9	74,3	71,6	72,9	61,8		
	$\beta\text{DGlcNAc}(1-3)$	104,0	57,3	75,4	72,6	77,1	62,4		23,6
	$>\alpha\text{LRha-OMe}$	99,6	76,8	79,4	72,9	70,4	17,8	56,1	
(4)	$\alpha\text{LRha}(1-2)$	102,7	71,4	71,2	73,4	70,2	17,8		
	$\beta\text{DGlcNAc}(1-3)$	103,5	57,2	75,1	71,2	77,0	62,2		23,4
	$>\alpha\text{LRha-OMe}$	101,0	77,7	80,8	72,5	69,9	17,8	56,0	
(5) [7]	$\beta\text{DGlcNAc}(1-2)$	103,6	56,8	75,2	71,1	77,2	61,6		23,8
	$\alpha\text{DGlc}(1-3)$	96,0	75,2	74,3	70,7	72,7	62,0		
	$>\alpha\text{LRha-OMe}$	101,1	75,4	75,4	72,1	70,0	18,0	56,1	
(25)	$\beta\text{DGlcNAc}(1-2)$	104,0	57,1	75,0	71,2	77,1	61,9		23,6
	$-\alpha\text{LRha-OMe}$	101,0	79,9	71,1	73,6	69,8	17,9	56,1	
(26)	$\alpha\text{DGlc}(1-2)$	98,9	72,7	74,1	70,9	73,3	61,8		
	$-\alpha\text{LRha-OMe}$	99,6	77,4	71,1	73,4	70,0	17,9	56,1	
(27)	$\alpha\text{LRha}(1-2)$	103,4	71,4	71,4	73,4	70,3	18,1		
	$-\alpha\text{LRha-OMe}$	100,9	79,6	71,4	73,6	69,8	17,8	56,2	
(28)	$\beta\text{DGlcNAc}(1-3)$	104,2	57,1	75,0	71,2	77,1	61,9		23,5
	$-\alpha\text{LRha-OMe}$	101,8	71,1	81,4	72,2	70,1	17,9	56,1	
(29)	$\alpha\text{DGlc}(1-3)$	97,0	72,7	74,3	70,9	73,1	61,8		
	$-\alpha\text{LRha-OMe}$	101,8	68,0	77,2	71,7	69,8	18,0	56,0	
(30)	$\alpha\text{LRha}(1-3)$	103,3	71,1	71,1	73,0	70,0	17,6		
	$-\alpha\text{LRha-OMe}$	101,8	70,8	79,0	72,4	69,6	17,6	56,1	
(31)	$\alpha\text{LRha-OMe}$	102,1	71,3	71,6	73,3	69,6	17,8	55,9	

*) Отнесение может быть изменено на обратное.

Отклонения от аддитивности (м. д.) в спектрах ^{13}C -ЯМР трисахаридов (1)—(10) для атомов C1—C6, C1' и C1'' (обозначения атомов как на рис. 1)

Соединение	Отклонения от аддитивности							
	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C1'	C1''
$\beta\text{DGlcNAc}(1-2) \backslash$ $\alpha\text{LRha-OMe}$ $\beta\text{DGlcNAc}(1-3) / (1)$	0,7	-1,5	1,3	-0,3	-0,1	0,1	-0,8	0,4
$\beta\text{DGlc}(1-2) \backslash$ $\alpha\text{LRha-OMe}$ $\beta\text{DGlc}(1-3) / (6)$	0,6	-0,5	-0,2	-0,4	0,1	0	-0,2	0,1
$\beta\text{DGlcNAc}(1-2) \backslash$ $\alpha\text{LRha-OMe}$ $\alpha\text{LRha}(1-3) / (2)$	0,8	-0,6	-0,8	0,9	0,5	0,2	-0,4	0
$\beta\text{DGlc}(1-2) \backslash$ $\alpha\text{LRha-OMe}$ $\alpha\text{LRha}(1-3) / (7)$	0,8	-0,2	-0,6	0,6	0,4	0,2	0	0,4
$\alpha\text{DGlc}(1-2) \backslash$ $\alpha\text{LRha-OMe}$ $\beta\text{DGlcNAc}(1-3) / (3)$	0,3	-0,4	-1,5	0,6	-0,1	-0,2	-0,3	-0,2
$\alpha\text{DMan}(1-2) \backslash$ $\alpha\text{LRha-OMe}$ $\beta\text{DGlc}(1-3) / (8)$	0,6	0,5	-1,3	0,2	0	-0,3	-0,1	0,5
$\alpha\text{LRha}(1-2) \backslash$ $\alpha\text{LRha-OMe}$ $\beta\text{DGlcNAc}(1-3) / (4)$	0,4	-1,7	-0,4	0	-0,4	-0,1	-0,7	-0,7
$\alpha\text{LRha}(1-2) \backslash$ $\alpha\text{LRha-OMe}$ $\beta\text{DGlc}(1-3) / (9)$	0,3	-1,5	0	-0,3	0,4	-0,2	-0,7	0,1
$\beta\text{DGlcNAc}(1-2) \backslash$ $\alpha\text{LRha-OMe}$ $\alpha\text{DGlc}(1-3) / (5)$	0,4	-1,2	-1,3	0,1	0	-0,1	-1,0	-1,0
$\beta\text{DGlc}(1-2) \backslash$ $\alpha\text{LRha-OMe}$ $\alpha\text{DGlc}(1-3) / (10)$	0,3	0	0,2	-0,2	-0,1	0	0	0,4

нами ранее трисахаридов (6)—(10) [6, 7]. Величины $\Delta\Delta$ были рассчитаны по известным [5—7] формулам. Так, в случае атомов углерода метилрамнозидного фрагмента, например для C1 использовалась формула (1), а для углеродов C1' и C1'' (аномерные атомы углерода моносахаридных остатков при O2 и O3 соответственно, см. рис. 1) — формулы (2) и (3).

$$\Delta\Delta\delta\text{C}_1 = \delta\text{C}_{1\text{TC}} - \delta\text{C}_{1(1\rightarrow2)} - \delta\text{C}_{1(1\rightarrow3)} + \delta\text{C}_{1\text{RhaOMe}} \quad (1)$$

$$\Delta\Delta\delta\text{C}_1' = \delta\text{C}_{1'\text{TC}} - \delta\text{C}_{1'(1\rightarrow2)} \quad (2)$$

$$\Delta\Delta\delta\text{C}_1'' = \delta\text{C}_{1''\text{TC}} - \delta\text{C}_{1''(1\rightarrow3)} \quad (3)$$

В формуле (1) $\delta\text{C}_{1\text{TC}}$, $\delta\text{C}_{1(1\rightarrow2)}$, $\delta\text{C}_{1(1\rightarrow3)}$ и $\delta\text{C}_{1\text{RhaOMe}}$ — химические сдвиги сигнала атома C1 в спектрах ^{13}C -ЯМР исследуемого трисахариды, соответствующих ему (1 → 2)- и (1 → 3)-связанных дисахаридов и метил- α -L-рамнопиранозида.

Сравнение данных табл. 3 показывает, что при переходе от трисахаридов,

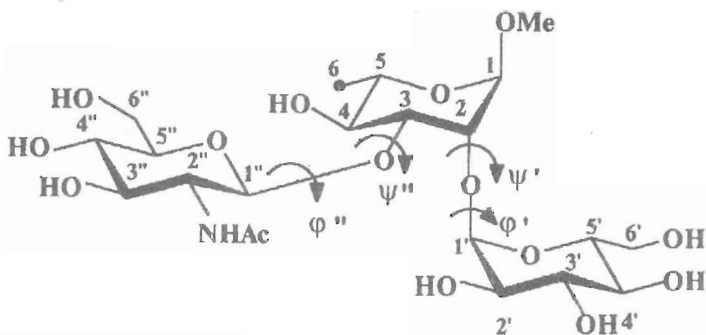


Рис. 1. Нумерация атомов и углов межсвязевого вращения в трисахаридах (приведен трисахарид (3))

содержащих β -D-глюкопиранозильный заместитель, к глюкозаминильным аналогам может наблюдаться как совпадение (пары (2) и (7), (3) и (8), (4) и (9)), так и различие величин $\Delta\Delta$ (пары (1) и (6), (5) и (10)). Обращает на себя внимание тот факт, что несовпадение отклонений от аддитивности выявлено в случае трисахаридов (1), (5), содержащих глюкозаминильный заместитель при O2.

Как отмечалось выше, причиной возникновения отклонений от аддитивности в спектрах трисахаридов рассматриваемого типа являются дисперсионные взаимодействия моносахаридных заместителей, сближенных благодаря их видинальному расположению. Поэтому наличие или отсутствие расхождений в величинах $\Delta\Delta$ в спектрах трисахаридов (1)–(5) и соответствующих им нейтральных аналогов может быть качественно объяснено, а в ряде случаев и предсказано с учетом конформационных свойств дисахаридных фрагментов, составляющих рассматриваемые трисахариды.

Теоретический конформационный анализ [23–27] предсказывает для 2-O- и 3-O-(2-ацетамидо-2-дезоксид- β -D-глюкопиранозил)- α -L-рамнопиранозильных фрагментов существование преобладающего конформера с *gosh*-ориентацией агликона (рамнозный остаток) по отношению к C1—O5-связи в глюкозаминильном заместителе. Таким образом, можно ожидать, что в преобладающих конформерах соединений с (1 \rightarrow 3)-связью между GlcNAc и Rha-OMe-звеньями объемная ацетамидная группировка ориентирована в сторону, противоположную заместителю при O2 дизамещенной рамнозы (см. рис. 2B). Поэтому для пар трисахаридов с глюкозаминильным заместителем при O3 и их нейтральных аналогов обоснованно можно ожидать подобия в их конформационных свойствах и, как следствие [6], совпадения величин $\Delta\Delta$. Это наглядно подтверждают данные для пар трисахаридов (3), (8) и (4), (9), приведенные в табл. 3. Так, наибольшая разница между отклонениями от аддитивности в случае трисахаридов (4) и (9) составляет 0,8 м. д. (для C1''), а в случае (3) и (8) — 0,9 м. д. (для C2'), что сопоставимо с допустимой ошибкой расчета величин $\Delta\Delta$ [8]. Пара соединений (3) и (8) дополнительно отличается конфигурацией атомов C2', однако, как нами отмечалось ранее [7], это различие практически не влияет на величины $\Delta\Delta$.

Противоположная ситуация может быть предсказана для трисахаридов, содержащих β -D-глюкозаминилрамнозидный дисахаридный фрагмент с 1—2-связью, в преобладающем конформере которого ацетамидная группировка GlcNAc, вероятнее всего, ориентирована в сторону второго моносахаридного заместителя, находящегося при O3 остатка рамнозы (рис. 2A). Поэтому для трисахаридов с глюкозаминильным заместителем при O2 и их нейтральных аналогов следует ожидать расхождения в величинах $\Delta\Delta$, так как вероятно их конформационное различие. Однако это расхождение может и отсутствовать, поскольку степень взаимодействия с ацетамидной группировкой определяется характером моносахаридного заместителя при O3. Так, в случае пар трисахаридов (1), (6) и (5), (10) наблюдаются значительные расхождения в величинах $\Delta\Delta$, а в спектрах трисахаридов (2) и (7) эти величины совпадают.

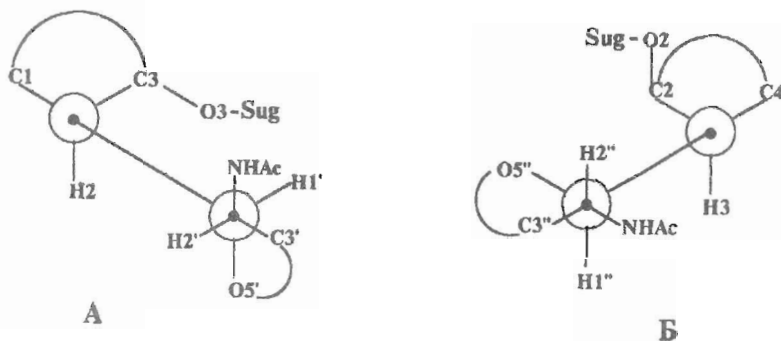


Рис. 2. Схематическое изображение ориентации ацетамидной группы относительно второго моносахаридного заместителя в трисахаридах, содержащих β -D-глюкозаминил- α -L-рамнозидный дисахаридный фрагмент со связями (1 \rightarrow 2)- (А) и (1 \rightarrow 3)- (Б)

Анализ молекулярных моделей трисахаридов (1), (2) и (5) с учетом данных проведенного нами ранее [5, 6] конформационного анализа нейтральных аналогов (6), (7) и (10) позволяет объяснить причины различия величин $\Delta\Delta$ в спектрах пар трисахаридов (1), (6) и (5), (10) и совпадения в случае соединений (2) и (7). Так, для трисахарида (6) установлены две наиболее низкоэнергетические конформации со значениями углов межсвязевого вращения $\varphi' = 57,7^\circ$ и $\psi' = 19,0^\circ$ ($E = -7,1$ кДж/моль) в первом случае и $\varphi' = 40,6^\circ$ и $\psi' = -24,1^\circ$ ($E = -6,7$ кДж/моль) — во втором (обозначения углов приведены на рис. 1). Анализ молекулярной модели трисахарида (1) свидетельствует, что в конформациях с указанными углами вращения возможно значительное взаимодействие между ацетамидной и первичноспиртовой группой моносахаридного заместителя при О3, причем оно должно усиливаться с увеличением значения угла ψ' , т. е. при переходе к более энергетически выгодной конформации. Это взаимодействие, видимо, и является причиной конформационных различий между трисахаридами (1) и (6), и, как следствие, величины отклонений от аддитивности заметно различаются (различие $\Delta\Delta C3$ составляет 1,5 м. д.).

Сравнение конформаций в рассматриваемых трисахаридах может быть проведено с использованием экспериментально определяемых ядерных эффектов Оверхаузера (ЯЭО). Сравнение данных для трисахаридов показывает, что наиболее наглядные величины — не непосредственно наблюдаемые ЯЭО, которые зависят от условий регистрации, а их относительные значения (по отношению к величине ЯЭО, наблюдаемой на протоне, связанном с гликозильрованным атомом углерода). Так, при предоблучении протона Н1' в трисахаридах (1) соотношение относительных интенсивностей ЯЭО на Н2 и суммарного ЯЭО на Н3' и Н5' составляет 1 : 3,6, в то время как в случае трисахаридов (6) — 1 : 1,7 [6]. Эти величины убедительно свидетельствуют о большем расстоянии между протонами Н1' и Н2 в трисахаридах (1), чем в (6), и объясняют более строгое значение величины $\Delta\Delta C2$ в спектре трисахаридов (1), так как ослабление взаимодействия протонов Н1' и Н2 уменьшает α -эффект гликозилирования [6]. Аналогичный анализ величин ЯЭО, наблюдаемых после предоблучения протонов Н1'' в соединениях (1) и (6), нами не проводился из-за перекрытия сигналов протонов Н2', Н3' и Н2'' в спектре 1H -ЯМР диглюкозаминилрамнозида (1) (см. табл. 1).

В случае пары трисахаридов (5) и (10) наблюдается различие величин $\Delta\Delta$ для С2 (1,2 м. д.) и С3 (1,5 м. д.) (см. табл. 3). Анализ молекулярной модели трисахаридов (5) показывает, что при значениях углов $\varphi'' = -61,5^\circ$ и $\psi'' = -40,0^\circ$, найденных [6] для низкоэнергетического конформера соединения (10), возможно пространственное взаимодействие ацетамидной группировки и гидроксильной группы при С2''. Вероятно, это и является причиной наблюдаемых различий величин $\Delta\Delta$ в спектрах соединений (5) и (10).

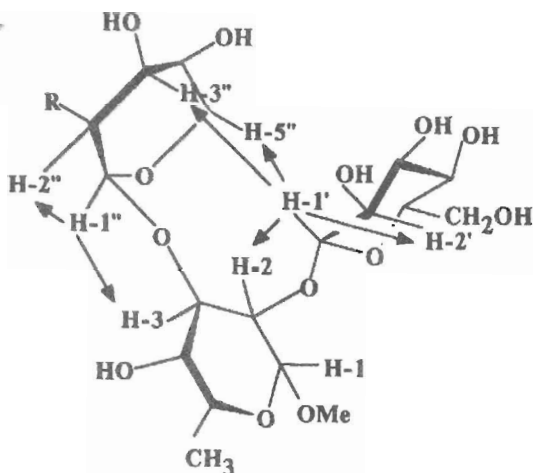


Рис. 3. Наблюдаемые ядерные эффекты Оверхаузера после предоблучения аномерных протонов $H1'$ и $H1''$ в трисахаридах (2) ($R = \text{NHAc}$) и (7) ($R = \text{OH}$). Приведена молекулярная модель низкоэнергетического конформера трисахарида (7) [6]

Как уже отмечалось выше, в случае трисахарида (2), содержащего глюкозаминильный заместитель при $O2$, и его нейтрального аналога (7) наблюдается совпадение величин $\Delta\Delta$ в спектрах ^{13}C -ЯМР, что, вероятнее всего, является следствием конформационного подобия этих соединений. Анализ молекулярной модели трисахарида (2) с учетом найденных ранее данных для соединения (7) [6] показывает, что при переходе от трисахарида (7) к (2) замена OH -группы на ацетамидную не должна приводить к заметным конформационным изменениям. Совпадение конформаций соединений (2) и (7) подтверждают и найденные экспериментально величины ЯЭО. Например, при предоблучении $H1'$ соотношение ЯЭО на $H2$ и суммарного ЯЭО на $H2'$, $H3'$ и $H5'$ составляет в обоих случаях 1 : 1,8. Особо надо отметить, что при предоблучении $H1'$ (см. рис. 3) в обоих трисахаридах наблюдаются небольшие ЯЭО на протонах $H3''$ и $H5''$ рамнозного заместителя при $O3$ (величина этих ЯЭО не была измерена в случае (2) из-за перекрывания сигналов $H2'$, $H3''$, $H5''$ и $H6'$), что особенно наглядно свидетельствует о конформационном подобии соединений (2) и (7). Это подтверждают и величины ЯЭО, наблюдаемые при предоблучении протонов $H1''$. Так, соотношения ЯЭО на протонах $H2''$ и $H3$ составляют в случае (2) и (7) соответственно 0,7 : 1 и 0,8 : 1.

Таким образом, на основании приведенных данных можно сделать вывод о том, что при переходе от вицинально разветвленных трисахаридов с нейтральными заместителями к стереохимически подобным трисахаридам, содержащим остатки аминсахаров, могут наблюдаться различия в величинах $\Delta\Delta$. Поэтому перенесение величин $\Delta\Delta$, полученных для модельных трисахаридов с нейтральными заместителями, на случаи соединений, содержащих в качестве заместителей остатки аминсахаров, может быть не всегда точным. Сказанное необходимо учитывать при формировании баз данных для компьютерного анализа разветвленных полисахаридов, а также при выборе величины допустимого различия между экспериментальными и рассчитанными спектрами при проведении компьютерного анализа разветвленных полисахаридов.

Экспериментальная часть

Методики очистки растворителей и реагентов, условия съемки спектров ЯМР и определения физико-химических констант приведены в работе [19]. Оптическое вращение водных растворов олигосахаридов (1)—(4), (25) и (28) измеряли на

цифровом поляриметре Jasko DIP-360 (Япония) при 26—30° С. Хроматографию в тонком слое проводили на пластинках с силикагелем Kieselgel-60 (Merck), вещества обнаруживали опрыскиванием 50—70% H₂SO₄ с последующим нагреванием при ~150° С. Колоночную хроматографию выполняли на силикагеле L40/100 мкм (ЧСФР), используя градиентное элюирование от бензола к этил-ацетату.

Метил-2,3-ди-О-(2-ацетиамидо-2-дезоксид-β-D-глюкопиранозил)-α-L-рамнопиранозид (1). 112 мг (0,1 ммоль) метил-2,3-ди-О-(3,4,6-три-О-ацетил-2-дезоксид-2-фталимидо-β-D-глюкопиранозил)-α-L-рамнопиранозид (11) растворяли при нагревании в 13 мл 96% этанола и 2 мл 99% гидразингидрата. Смесь кипятили 20 ч, упаривали и соупаривали с водой (3×5 мл). Остаток растворяли в 2 мл воды и 10 мл метанола, прибавляли 4 мл ацетангидрида и оставляли на 18 ч при комнатной температуре. Смесь упаривали и соупаривали с водой (2×5 мл), остаток растворяли в 13 мл воды и 10 мл *n*-бутанола, водный слой отделяли, промывали бутанолом (2×10 мл) и упаривали. Из остатка гель-фильтрацией на колонке с биогелем Р-4 (2,5×55 см, —400 меш, V₀ 110 мл) при элюировании 0,1 М уксусной кислотой выделяли 49 мг трисахарида (1). Выход 84%, [α]_D —5,4° (с 1).

Метил-2-О-(2-ацетиамидо-2-дезоксид-β-D-глюкопиранозил)-3-О-(α-L-рамнопиранозил)-α-L-рамнопиранозид (2). Смесь 123 мг (0,25 ммоль) метил-4-О-ацетил-3-О-(2,3,4-три-О-ацетил-α-L-рамнопиранозил)-α-L-рамнопиранозид (14) [16], 153 мг (0,61 ммоль) цианида ртути, 50 мг бромида ртути, молекулярных сит 4Å и 3 мл абс. ацетонитрила перемешивали 1 ч в атмосфере аргона. Шприцем через силиконовую пробку в течение 3 ч порциями прибавляли раствор 302 мг (0,61 ммоль) 3,4,6-три-О-ацетил-2-дезоксид-2-фталимидо-β-D-глюкопиранозилбромида (18) в 1,4 мл ацетонитрила. Смесь перемешивали 17 ч, разбавляли 15 мл хлороформа и 15 мл насыщенного водного раствора КВг и фильтровали через слой целита, который затем промывали 15 мл хлороформа. Органический слой фильтрата отделяли, промывали раствором КВг (2×20 мл) и водой, фильтровали через слой ваты, концентрировали и из остатка колоночной хроматографией при градиентном элюировании от бензола к ацетону выделяли 174 мг (76%) защищенного трисахарида (15). В условиях синтеза трисахарида (1) полученный (15) далее переводили в целевой продукт (2). Выход 70 мг (70%), [α]_D —42,3° (с 1).

Метил-3-О-(2-ацетиамидо-2-дезоксид-β-D-глюкопиранозил)-2-О-(α-D-глюкопиранозил)-α-L-рамнопиранозид (3). В условиях синтеза трисахарида (2) гликозилированием 122 мг (0,16 ммоль) метил-4-О-бензил-2-О-(2,3,4,6-тетра-О-бензил-α-D-глюкопиранозил)-α-L-рамнопиранозид (16) [7] действием 200 мг (0,42 ммоль) глюкозаминилбромида (18) получали 143 мг (77%) защищенного трисахарида (17). Продукт (17) подвергали каталитическому гидрогенолизу в 10 мл этанола над 5% Pd/C при 40° С, смесь фильтровали через слой целита, упаривали, обрабатывали гидразингидратом и N-ацетилировали в условиях синтеза (1), получали трисахарид (3). Выход 31 мг (16%), [α]_D 28,7° (с 1).

Метил-3-О-(2-ацетиамидо-2-дезоксид-β-D-глюкопиранозил)-2-О-(α-L-рамнопиранозил)-α-L-рамнопиранозид (4). В условиях синтеза трисахарида (2) проводили гликозилированием 81 мг (0,25 ммоль) метил-2-О-ацетил-4-О-бензоил-α-L-рамнопиранозид (20) [17] с помощью 337 мг (0,5 ммоль) 3,4,6-три-О-бензоил-2-дезоксид-2-фталимидо-β-D-глюкопиранозилбромида (19) [17] получали 188 мг (82%) соединения (21), которое затем избирательным дезацетилированием в условиях мягкого метанолиза [7, 18] переводили в моногидроксильное производное (22) с выходом 165 мг (92%). В условиях синтеза трисахарида (2) гликозилированием дисахарида (22) с помощью 189 мг (0,35 ммоль) бензобромрамнозы (23) сначала получали защищенный продукт (24) (211 мг, 84%), а затем свободный трисахарид (4). Выход 65 мг (78%), [α]_D —56,4° (с 1).

Метил-2-О-(2-ацетамидо-2-дезоксиг-β-D-глюкопиранозил)-α-L-рамнопиранозид (25) получали из 120 мг (0,17 ммоль) дисахарида (13) в условиях получения трисахарида (1). Выход 51 мг (79%), $[\alpha]_D -25,7^\circ$ (с 1).

Метил-3-О-(2-ацетамидо-2-дезоксиг-β-D-глюкопиранозил)-α-L-рамнопиранозид (28) получали аналогично из 170 мг (0,24 ммоль) дисахарида (12). Выход 84 мг (91%), $[\alpha]_D -39,4^\circ$ (с 1).

Работа финансирована грантом 93-03-18196 Российского фонда фундаментальных исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Шапков А. С., Нифантьев Н. Э., Кочетков Н. К. // Биоорганическая химия. 1993. Т. 19. № 7. С. 756—759.
2. Lipkind G. M., Shashkov A. S., Kochetkov N. K. // Carbohydr. Res. 1990. V. 198. № 2. P. 399—402.
3. Lipkind G. M., Shashkov A. S., Nifant'ev N. E., Kochetkov N. K. // Carbohydr. Res. 1992. V. 237. P. 11—22.
4. Нифантьев Н. Э., Шапков А. С., Липкин Г. М., Кочетков Н. К., Янн Б., Янн К. // Биоорганическая химия. 1993. Т. 19. № 10. С. 980—987.
5. Lipkind G. M., Nifant'ev N. E., Shashkov A. S., Kochetkov N. K. // Can. J. Chem. 1990. V. 68. № 7. P. 1238—1250.
6. Kochetkov N. K., Lipkind G. M., Shashkov A. S., Nifant'ev N. E. // Carbohydr. Res. 1991. V. 221. P. 145—168.
7. Nifant'ev N. E., Lipkind G. M., Shashkov A. S., Kochetkov N. K. // Carbohydr. Res. 1992. V. 237. P. 95—113.
8. Нифантьев Н. Э., Амочаева В. Ю., Шапков А. С., Кочетков Н. К. // Биоорганическая химия. 1993. Т. 19. № 6. С. 633—643.
9. Назаренко Е. Л., Горикова Р. П., Оводов Ю. С., Шапков А. С., Книрель Ю. А. // Биоорганическая химия. 1989. Т. 15. № 8. С. 1100—1106.
10. Altman E., Brisson J.-R., Perry M. B. // Biochem. Cell. Biol. 1986. V. 64. P. 1317—1325.
11. Coligan J. E., Kindt T. J., Krause R. M. // Immunochimistry. 1978. V. 15. P. 755.
12. Jansson P.-E., Lindberg B., Ogunlesi M., Svensson S. B., Wrangsell G. // Carbohydr. Res. 1984. V. 134. № 2. P. 283—291.
13. Kenne L., Lindberg B., Petersson K., Katzenellenbogen E., Romanowska E. // Eur. J. Biochem. 1978. V. 91. № 2. P. 279—284.
14. Бакиновский Л. В., Гомцын А. Р., Байрамова Н. Э., Кочетков Н. К. // Биоорганическая химия. 1984. Т. 10. С. 79—87.
15. Нифантьев Н. Э., Амочаева В. Ю., Шапков А. С. // Биоорганическая химия. 1992. Т. 18. № 4. С. 562—569.
16. Schwarzenbach D., Jeanloz R. W. // Carbohydr. Res. 1980. V. 81. № 2. P. 323—329.
17. Бухаров А. В. Дис... канд. хим. наук. М.: ИОХ РАН, 1989.
18. Вуратова Н. Е., Ovchinnikov M. V., Backinowsky L. V., Kochetkov N. K. // Carbohydr. Res. 1983. V. 124. P. c8—c11.
19. Нифантьев Н. Э., Бакиновский Л. В., Липкин Г. М., Шапков А. С., Кочетков Н. К. // Биоорганическая химия. 1991. Т. 17. № 4. С. 517—530.
20. Nifant'ev N. E., Lipkind G. M., Shashkov A. S., Kochetkov N. K. // Carbohydr. Res. 1992. V. 223. P. 109—128.
21. Nifant'ev N. E., Amochaeva V. Y., Shashkov A. S., Kochetkov N. K. // Carbohydr. Res. 1993. V. 250. P. 211—230.
22. Shashkov A. S., Nifant'ev N. E., Amochaeva V. Y., Kochetkov N. K. // Magn. Res. Chem. 1993. V. 31. P. 599—605.
23. Arnott S., Scott W. E. // J. Chem. Soc. Perkin Trans. II. 1972. № 3. P. 324—335.
24. Lipkind G. M., Shashkov A. S., Mamyan S. S., Kochetkov N. K. // Carbohydr. Res. 1988. V. 181. № 1. P. 1—12.
25. Lemieux R. U., Bock K., Delbaere L. T. J., Koto S., Rao V. S. // Can. J. Chem. 1980. V. 58. P. 631—653.
26. Bock K. // Pure Appl. Chem. 1983. V. 55. P. 605—622.
27. Paulsen H., Peters T., Sinwell V., Lebuhr R., Meyer B. // Justus Liebigs Ann. Chem. 1984. S. 951—976.

*N. E. Nifant'ev, A. S. Shashkov, E. A. Khatuntseva,
Y. E. Tsvetkov, A. A. Sherman, N. K. Kochetkov*

**SYNTHESIS AND CONFORMATIONAL STUDIES OF BRANCHED
OLIGOSACCHARIDES. 15. 2,3-DI-O-GLYCOSYLATED METHYL
 α -L-RHAMNOPYRANOSIDES CONTAINING
2-ACETAMIDO-2-DEOXY- β -D-GLUCOPYRANOSYL RESIDUES**

*N. D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Russian Academy of Sciences,
Moscow*

Key words: ^{13}C -NMR spectroscopy, branched oligosaccharides, deviations from additivity in NMR spectra.

A series of methyl 2,3-di-O-glycosyl- α -L-rhamnopyranosides with 2-acetamido-2-deoxy- β -D-glucopyranosyl substituents have been synthesized and the deviations from additivity ($\Delta\Delta$) in their ^{13}C -NMR spectra determined. It is shown that the $\Delta\Delta$ values for the trisaccharides with the GlcNAc substituent at O-2 of the diglycosylated Rha may markedly differ from the $\Delta\Delta$ values in the spectra of the respective trisaccharides with the Glc substituent. These deviations are probably associated with the intramolecular spatial interactions with participation of the NHAc-group.