



УДК 543.422.25:547.458.057:577.114.012

СИНТЕЗ АМИНОЭТИЛГЛИКОЗИДОВ ОЛИГОСАХАРИДНЫХ ЦЕПЕЙ ГАНГЛИОЗИДОВ GM₁ И асиало-GM₁

© 2004 г. П. Е. Чешев, Е. А. Хатунцева, Ю. Е. Цветков,
А. С. Шашков, Н. Э. Нифантьев[#]

Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН,
119991, Москва, В-334, Ленинский просп., 47

Поступила в редакцию 10.12.2002 г. Принята к печати 20.01.2003 г.

4'-О-Гликозилированием (2-азидоэтил)-2,3,6-три-О-бензил-4-О-(2,3-ди-О-бензил-6-О-бензоил-β-D-галактопиранозил)-β-D-глюкопиранозид дисахаридным гликозилдонором (4-трихлорацетамидофенил)-4,6-ди-О-ацетил-2-дезоксид-3-О-(2,3,4,6-тетра-О-ацетил-β-D-галактопиранозил)-1-тио-2-трихлорацетамидо-β-D-галактопиранозидом в дихлорметане в присутствии *N*-иодсукцинимидом и трифторметансульфо кислоты с выходом 69% был получен (2-азидоэтил)-(2,3,4,6-тетра-О-ацетил-β-D-галактопиранозил)-(1 → 3)-(4,6-ди-О-ацетил-2-дезоксид-2-трихлорацетамидо-β-D-галактопиранозил)-(1 → 4)-(2,3-ди-О-бензил-6-О-бензоил-β-D-галактопиранозил)-(1 → 4)-2,3,6-три-О-бензил-β-D-глюкопиранозид. В данном соединении удаляли *O*-защитные группы, заменяли *N*-трихлорацетильную группу на ацетильную, восстанавливали азидогруппу в агликоне и получали аминоэтилгликозид β-D-Gal-(1 → 3)-β-D-GalNAc-(1 → 4)-β-D-Gal-(1 → 4)-β-D-Glc-OCH₂CH₂NH₂ (общий выход 72%), содержащий олигосахаридную цепь ганглиозида асиало-GM₁. Избирательным 3'-О-гликозилированием (2-азидоэтил)-2,3,6-три-О-бензил-4-О-(2,6-ди-О-бензил-β-D-галактопиранозил)-β-D-глюкопиранозид тигликозидом метил (этил-5-ацетамидо-4,7,8,9-тетра-О-ацетил-3,5-дидезокси-2-тио-*D*-глицеро-α-*D*-галакто-2-нонулопиранозил)онатом в ацетонитриле в присутствии *N*-иодсукцинимидом и трифторметансульфо кислоты с выходом 79% был получен (2-азидоэтил)-[метил (5-ацетамидо-4,7,8,9-тетра-О-ацетил-3,5-дидезокси-*D*-глицеро-α-*D*-галакто-2-нонулопиранозил)онат]-(2 → 3)-(2,6-ди-О-бензил-β-D-галактопиранозил)-(1 → 4)-2,3,6-три-О-бензил-β-D-глюкопиранозид – избирательно защищенное производное олигосахаридной цепи ганглиозида GM₃. 4'-О-Гликозилированием последнего (4-трихлорацетамидофенил)-4,6-ди-О-ацетил-2-дезоксид-3-О-(2,3,4,6-тетра-О-ацетил-β-D-галактопиранозил)-1-тио-2-трихлорацетамидо-β-D-галактопиранозидом в дихлорметане в присутствии *N*-иодсукцинимидом и трифторметансульфо кислоты с выходом 85% был получен (2-азидоэтил)-(2,3,4,6-тетра-О-ацетил-β-D-галактопиранозил)-(1 → 3)-(4,6-ди-О-ацетил-2-дезоксид-2-трихлорацетамидо-β-D-галактопиранозил)-(1 → 4)-[метил (5-ацетамидо-4,7,8,9-тетра-О-ацетил-3,5-дидезокси-*D*-глицеро-α-*D*-галакто-2-нонулопиранозил)онат]-(2 → 3)]-(2,6-ди-О-бензил-β-D-галактопиранозил)-(1 → 4)-2,3,6-три-О-бензил-β-D-глюкопиранозид. В данном пентасахариде удаляли *O*-защитные группы, заменяли *N*-трихлорацетильную группу на ацетильную, восстанавливали азидогруппу в агликоне и с общим выходом 85% получали аминоэтилгликозид β-D-Gal-(1 → 3)-β-D-GalNAc-(1 → 4)-[α-*D*-Neu5Ac-(2 → 3)]-β-D-Gal-(1 → 4)-β-D-Glc-OCH₂CH₂NH₂, содержащий олигосахаридную цепь ганглиозида GM₁.

Ключевые слова: гликозилирование, асиало-GM₁, GM₁, ганглиозиды, аминоэтилгликозиды, сиалилирование.

ВВЕДЕНИЕ

Галектины, животные белки, специфически связывающие галактозосодержащие углеводные структуры, вовлечены в процессы клеточной адгезии, пролиферации и апоптоза [1–4]. Известно,

что галектины избирательно распознают ганглиозидные углеводные фрагменты, например, была показана высокая специфичность галектина-1 к ганглиозиду GM₁ [5]. В настоящей работе мы описываем синтез аминоэтилгликозидов пентасахаридной углеводной цепи ганглиозида GM₁, а также его асиалопроизводного (асиало-GM₁), необходимых для изучения углеводной специфичности галектинов. Аминоэтильный спейсер в целевых соединениях (I) и (XXII) (см. ниже схемы 1, 4) будет использован для последующей конъюгации с носителями и метками.

Сокращения: Bn – бензил; Bz – бензоил; CAN – церийаммонийнитрат; MPLC – medium pressure liquid chromatography; MPB – *p*-метоксibenзил; MS – молекулярные сита; NIS – *N*-иодсукцинимид; Tf – трифторметилсульфонил; TsOH – толуолсульфо кислоты.

[#] Автор для переписки (тел./факс: (095) 135-8784; эл. почта: pen@ioc.ac.ru).

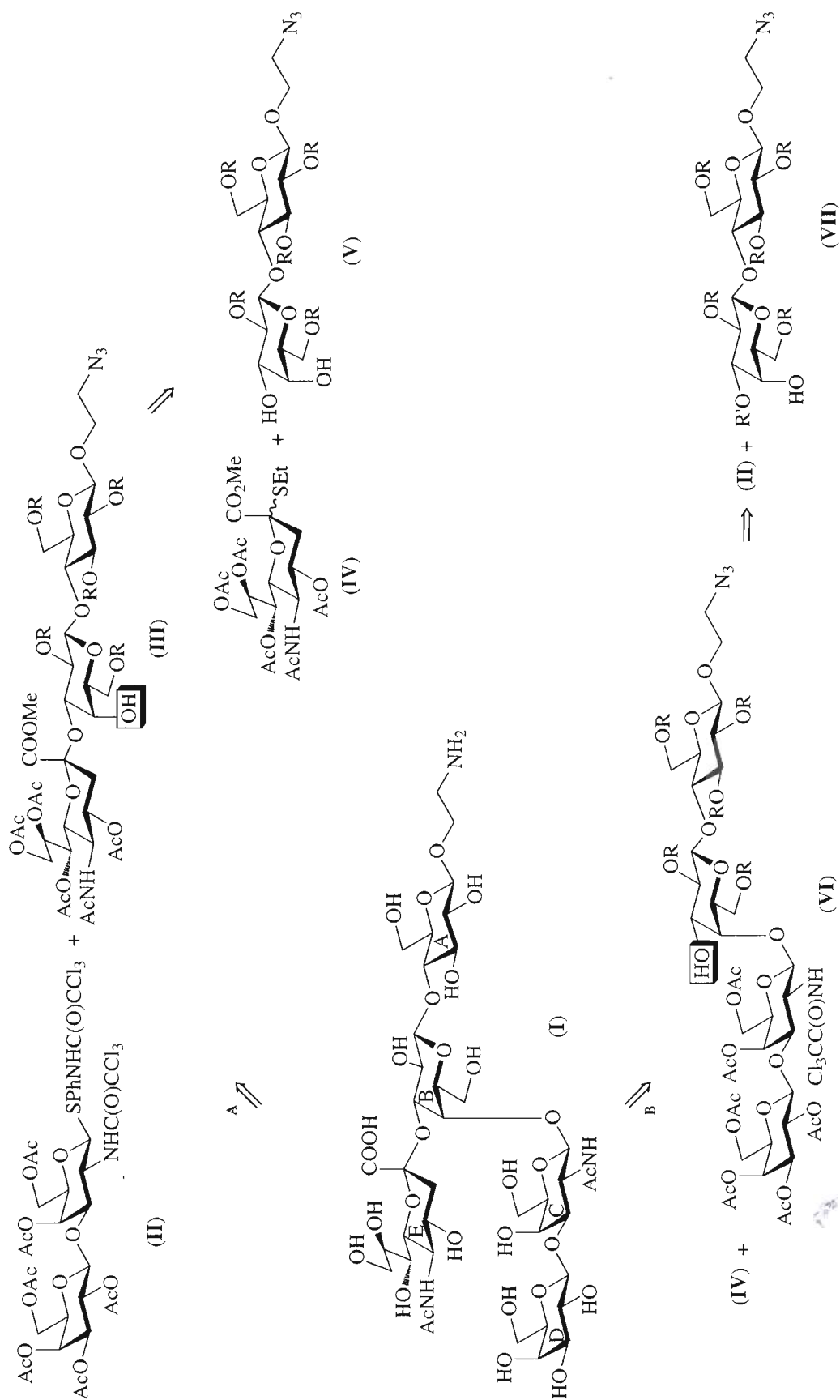


Схема 1. Ретросинтетический анализ олигосахаридной структуры ганглиозида GM₁ с разбором через цепи GM₃ (A) и асиало-GM₁ (B).

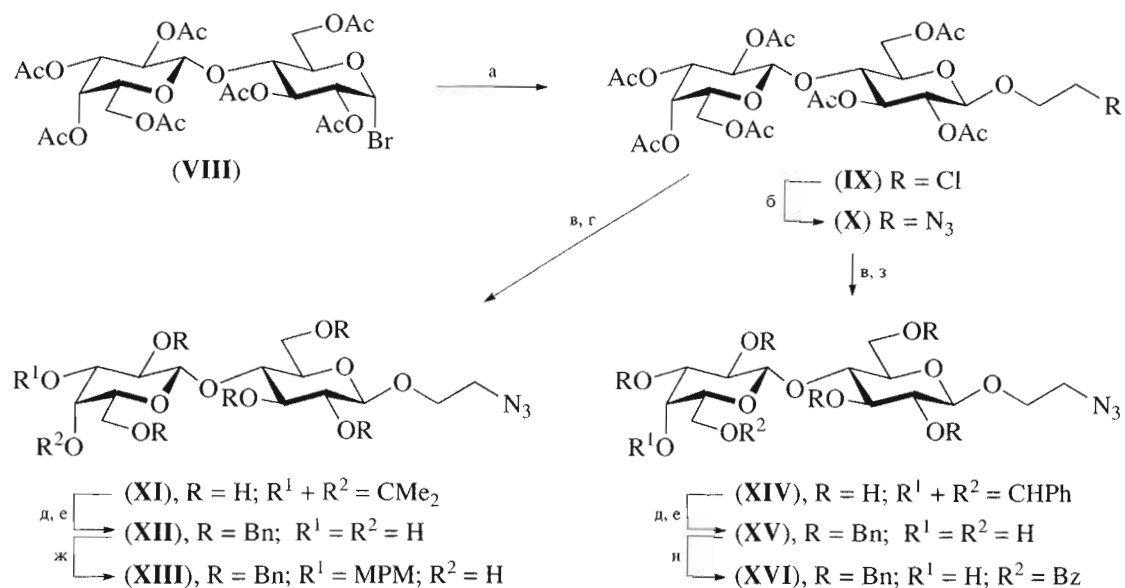


Схема 2. а – ClCH₂CH₂OH, HgBr₂/Hg(CN)₂; б – NaN₃, DMF, 18-краун-6; в – MeONa/MeOH; г – Me₂C(OMe)₂, TsOH; д – NaH, BnBr, DMF; е – AcOH; ж – Bu₂SnO/толуол, MPM-Cl/Py; з – PhCH(OMe)₂, TsOH; и – BzCl/Py.

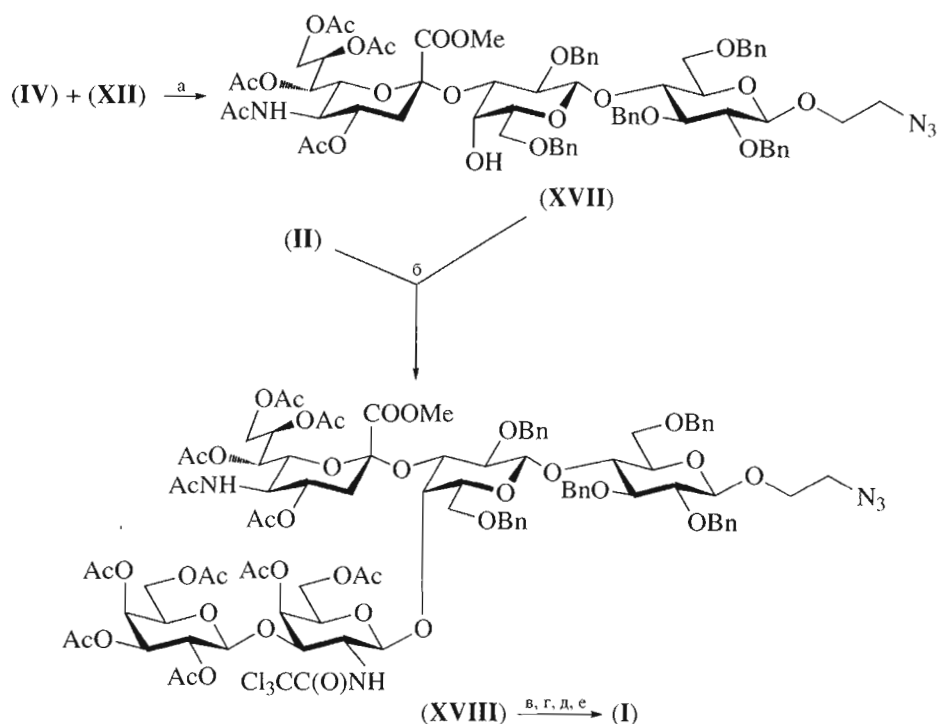


Схема 3. а – NIS/TfOH, CH₃CN; б – NIS/TfOH, CH₂Cl₂; в – NaOH, MeOH/H₂O; г – Ac₂O, NaOH; д – Pd/C, Вос₂O; е – CF₃COOH, H₂O/MeOH.

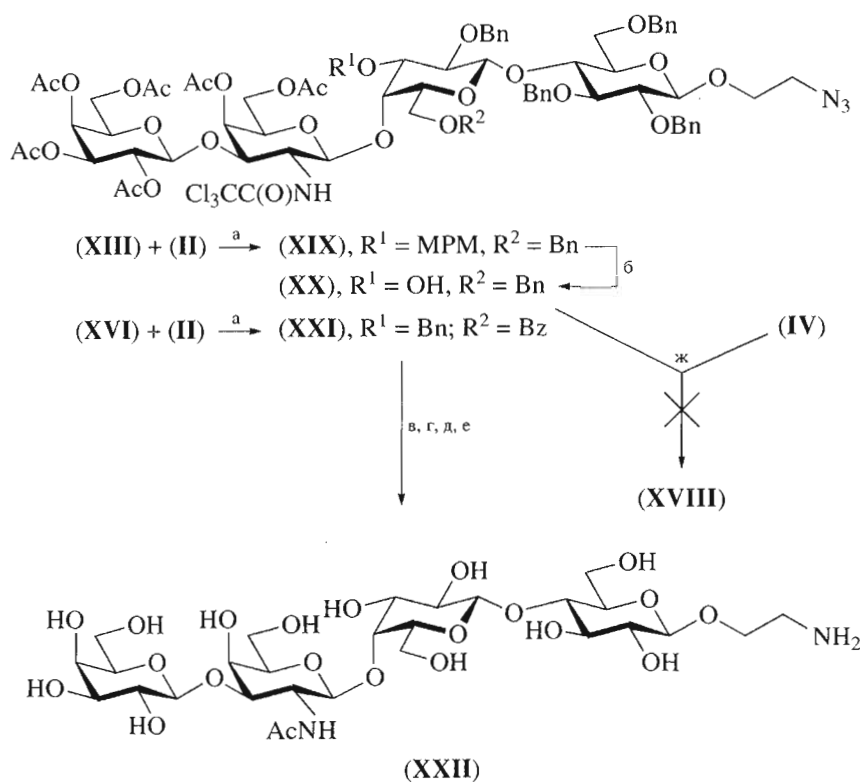


Схема 4. а – NIS/TfOH, CH₂Cl₂; б – CAN, CH₃CN/H₂O; в – NaOH, MeOH/H₂O; г – Ac₂O, NaOH; д – H₂, Pd/C, Voc₂O; е – CF₃COOH, H₂O/MeOH; ж – NIS/TfOH, CH₃CN.

Синтезы ганглиозида GM₁ и его производных были ранее осуществлены в ряде лабораторий [6–10]. Использовались три различных подхода к синтезу пентасахаридной цепи GM₁ (I). Первый основан на сиалилировании соответствующего производного асиало-GM₁ (схема 1, путь В) [8]. Во втором используется присоединение дисахаридного фрагмента β-D-Gal-(1 → 3)-β-D-GalNAc к избирательно защищенному сиалиллактозному блоку (цепь GM₃) [6, 10] (схема 1, А). Третий подход включает в себя галактозаминирование сиалиллактозного блока с последующим галактозилацией терминального остатка GalNAc (разбиение через цепь GM₂) [7].

Данная работа является продолжением наших исследований, посвященных использованию нового трихлорацетидафенилгликозидного блока на основе дисахаридов β-D-Gal-(1 → 3)-D-GalNAc [11] в синтезах природных углеводных цепей. Ранее [12] мы сообщали о применении данного соединения при получении спейсерированного производного пентасахаридов Gb₅. В настоящей статье нами рассматривается применение дисахаридов (II) [11] в синтезе аминоэтилгликозидов пентасахаридов GM₁ и тетрасахаридов асиало-GM₁.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ретросинтетический анализ целевого соединения (I) (схема 1) выделил возможность его получения с использованием следующих синтетических блоков: на основе дисахаридов β-D-Gal-(1 → 3)-β-D-GalNAc (II), нейраминовой кислоты (IV) [13] и, в зависимости от используемого разбиения, дили или моногидроксильных производных лактозы (V) и (VII) соответственно.

Сначала нами была исследована схема синтеза пентасахаридов (I), включающая первоначальное получение избирательно защищенного производного со скелетом GM₃ (III) и последующее присоединение к нему дисахаридов (II) (схема 1, А). В качестве акцепторного диольного лактозного блока (V), необходимого для получения (III), нами был выбран диол (XII), содержащий азидоэтильный преспейсер (схема 2). Для получения последнего нами использовалась последовательность превращений, изображенная на схеме 2.

Гликозилацией ацетилированным лактозилбромидом (VIII) хлорэтанола в присутствии цианида и бромида ртути(II) с выходом 74% был получен хлорэтилгликозид (IX) (схема 2), атом хлора в агликоне которого далее замещали на азидную группу с образованием азида (X). 2-Ази-

доэтилгликозид (**X**) дезацетилировали, а образующийся гептаол избирательным 3',4'-изопротипиденированием по методу [14] переводили в соединение (**XI**) с выходом 82%. Ацетонид (**XI**) исчерпывающе бензилировали, удаляли изопротипиденовую группу и получали диол (**XII**) с выходом 98%.

Гликозилирование диола (**XII**) тиогликозидом (**IV**) [13] проводили в абсолютном ацетонитриле при промотировании NIS и TfOH. В данных условиях целевой трисахарид (**XVII**) был получен с выходом 79% практически без образования нежелательного β -изомера (схема 3). Надо отметить, что нами получен лучший результат в сравнении с проводившимися ранее реакциями сиалилирования различных производных лактозы сиалилдонорами без соучаствующей группы при C3, в которых выходы не превышали 70% и при этом реакция часто протекала с невысокой стереоселективностью [15, 9]. Строение продукта (**XVII**) подтверждалось данными спектров ЯМР (табл. 1, 2). Направление гликозилирования подтверждалось более слабopольным положением в спектре ^{13}C -ЯМР (**XVII**) (табл. 2) сигнала C3' при 76.1 м.д. по сравнению с его положением (73.5 м.д.) в спектре диола (**XII**). α -Конфигурация остатка нейраминовой кислоты подтверждалась положением сигнала H4'' 4.83 м.д. и величинами $J_{7'',8''}$ 7.6 Гц и $\Delta\delta$ (H9''_a – H9''_b) 0.36 м.д. (табл. 1), что находилось в полном соответствии с известными эмпирическими правилами [16], согласно которым в спектрах ^1H -ЯМР пентаацетилированный α -связанный остаток Neu5Ac имеет: δ H4 4.80–4.93 м.д., $J_{7,8}$ 6.2–8.5 Гц, $\Delta\delta$ (H9_a–H9_b) меньше чем 0.5 м.д.

Полученный трисахарид (**XVII**) был далее введен в реакцию с дисахаридным гликозилдоном (**II**) с образованием требуемого производного GM₁ (**XVIII**) (схема 3) с выходом 85% (считая на прореагировавший акцептор). β -Конфигурация созданной гликозидной связи подтверждалась характеристической величиной KССВ $J_{1'',2''}$ 8.6 Гц в спектре ^1H -ЯМР (**XVIII**) (табл. 1).

В пентасахаридах (**XVIII**) проводили удаление всех ацильных групп при обработке 1 М раствором NaOH в водном метаноле с последующим *N*-ацетилированием уксусным ангидридом образующейся свободной аминогруппы в остатке галактозамина (схема 3). Удаление бензильных групп и восстановление азидогруппы проводили гидрированием в водном этаноле над Pd/C в присутствии Wos_2O для связывания образующегося в реакции амина [17]. После удаления Wos -защиты действием трифторуксусной кислоты в водном метаноле целевое производное GM₁ (**I**) выделили колоночной хроматографией с общим выходом 85%, считая на предшественник (**XVIII**). Строение пентасахарида (**I**), а именно конфигу-

рации аномерных центров, направления межзвеньевых связей и наличие аминоэтильного агликона (δ CH_2NH_2 38.4 м.д.) подтверждено данными спектров ^1H - (табл. 1) и ^{13}C -ЯМР (табл. 2). В частности, α -конфигурация остатка нейраминовой кислоты в нем подтверждалась величиной химического сдвига протонов H3_{eq} (2.70 м.д.) и H4 (3.70 м.д.), что находится в полном согласии с эмпирическими правилами [16], согласно которым, для незащищенного α -связанного остатка нейраминовой кислоты сигнал H3_{eq} лежит в диапазоне 2.67–2.72 м.д., а сигнал H4 – в диапазоне 3.6–3.8 м.д.

Как отмечалось выше, нами рассматривались два подхода к синтезу целевого производного GM₁ (**I**). Получение последнего по методу **B** (схема 1) включает в себя первоначальное получение моногидроксильного производного асиало-GM₁ (**VI**) с последующим его сиалилированием. Для получения азидогликозида (**VI**) необходим акцепторный лактозный блок типа (**VII**), в качестве которого нами было предложено использовать спирт (**XIII**), содержащий временную метоксибензильную защитную группу при C3'. Диол (**XII**) обрабатывали Bu_2SnO , и образующееся станниленовое производное 3'-*O*-метоксибензилировали действием MPM-Cl с региоизбирательным образованием 4'-гидрокси производного (**XIII**) с выходом 93%. Наличие метоксибензильной группы при O3' в соединении (**XIII**) подтверждалось слабopольным химическим сдвигом сигнала атома углерода C3' 81.7 м.д. в спектре ^{13}C -ЯМР по сравнению с сигналом этого атома в диоле (**XII**), находящимся в области 73.2 м.д. Присутствие свободной OH-группы при C4' подтверждалось наличием дополнительного расщепления сигнала H4' на протоне гидроксильной группы в спектре ^1H -ЯМР соединения (**XIII**).

Гликозилированием акцептора (**XIII**) гликозилдоном (**II**) в дихлорметане в присутствии NIS и TfOH (схема 4) был получен защищенный тетрасахарид (**XIX**) с выходом 63%. β -Конфигурация остатка GalN в соединении (**XIX**) подтверждалась характеристической величиной KССВ $J_{1'',2''}$ 8.4 Гц в спектре ^1H -ЯМР (табл. 1), а положение гликозилирования – слабopольным положением в спектре ^{13}C -ЯМР (табл. 2) сигнала C4' 72.8 м.д. В соединении (**XIX**) удаляли метоксибензильную защитную группу при обработке CAN в водном ацетонитриле с образованием моногидроксильного производного (**XX**) с выходом 90%.

Попытки сиалилирования соединения (**XX**) тиогликозидом (**IV**) в условиях, предложенных Хасегавой [15] (абсолютный ацетонитрил, NIS, кат. количество TfOH, молекулярные сита MS-3 \AA , –30–40°C), не привели к образованию сколь-либо заметных количеств требуемого продукта, а

Таблица 1. Данные спектров ¹H-ЯМР соединений (I), (XXI) (D₂O), (XIV) (CD₃OD) и (IX)–(XIII), (XV)–(XX), (XXII) (CDCl₃)

Соединение	Остаток	Химический сдвиг, (δ) м.д.						КССВ, Гц							
		H1	H2	H3	H4	H5	H6 _a	H6 _b	J _{1,2}	J _{2,3}	J _{3,4}	J _{4,5}	J _{5,6a}	J _{5,6b}	J _{6a,6b}
(I)	Glc	4.50	3.32	3.68	3.62	3.57–4.0		7.8	8.6	8.1					
	Gal	4.46	3.34	4.14	4.12			7.6	9.4						
	GalN	4.77	4.04	3.80	4.15			7.3	10.8						
	Gal'	4.48	3.53	3.63	3.92				9.5	2.7					
	Neu5Ac*			1.9; 2.7	3.70					5.1 eq					
(IX)	Glc	4.47	4.89	5.18	3.78	3.58	4.49	4.09	7.8	9.5	9.2	9.5			
	Gal	4.52	5.08	4.93	5.32	3.86	4.09		8.0	10.5	3.5	<1	6.7		
(X)	Glc	4.46	4.87	5.15	3.78	3.62	4.50	4.06	8.1	8.1	9.2	9.3			
	Gal	4.52	5.05	4.93	5.25	3.84	4.08		7.8	7.9	3.0	<1	6.8		
(XI)	Glc	4.32	3.24	3.52		3.40	3.87	3.80	8.0	8.0			<1	4.1	12.0
	Gal	4.34	3.42	4.03	4.18	3.92	3.77	3.74	9.0	6.9	6.9	<1			
(XII)	Glc	4.33	3.34	3.52	3.91	3.30	3.67	3.73	9.6		2.3		5.2		10.4
	Gal	4.37	3.32	3.37	3.85	3.30	3.44	3.55	8.0						
(XIII)	Glc	4.45	3.45	3.70	4.05	3.43	3.46	3.83	8.4						
	Gal	4.48	3.62	3.35–3.42		4.08	3.65–3.85		7.9						
(XIV)	Glc	4.55	3.48	3.76	3.82	3.63	4.11		7.8	7.9					
	Gal	4.68	3.86		4.40	3.82	4.40	4.35	6.8			<1			
(XV)	Glc	4.45	3.49	3.61	3.96	3.41	3.83	3.73	7.8		9.3	9.3	4.1	<1	10.8
	Gal	4.40	3.62	3.35	3.92	3.17	3.63	3.60	7.3	9.3	3.1	<1			
(XVI)	Glc	4.44	3.50	3.63	4.03	3.41	3.85	3.73	7.8	9.1	9.1	9.1	4.0	<1	10.8
	Gal	4.45	3.62	3.39	3.91	3.47	4.54	4.29	7.6	8.9	3.1	<1	6.5	6.5	11.2
(XVII)	Glc	4.36	3.41	3.55	3.95	3.33	3.49		8.0						
	Gal	4.56	3.53	4.08	3.82	3.50	3.67		7.5	10.3	2.3				
(XVIII)	Neu5Ac**			2.0; 2.5	4.83	4.07	4.0				4.4 eq	11.1			
	Glc	4.40	3.40	3.58	3.94	3.39	3.70	4.00	7.7	8.7					
	Gal	4.51	3.56	4.01	3.72	3.45	3.42	3.69	7.1	9.6	2.3				
	GalN	5.13	4.33	4.20	5.24		4.06	4.20	8.6		<1				
	Gal'	4.73	5.10	4.92	5.37	3.85	4.10	4.18	7.9	10.4	3.0				
(XIX)	Neu5Ac				5.17	3.92	3.82								
	Glc	4.43	3.45	3.60	4.03	3.40	3.43	3.69	8.3	9.6	10.0				
	Gal	4.47	3.62	3.39	4.08	3.42	3.72–3.88		7.9	8.8	2.6				
	GalN	5.10	3.84	4.26	5.45	3.82	4.16–4.27		8.4		3.1				
	Gal'	4.53	5.09	4.91	5.36	3.87	4.07	4.29	8.2	10.2	3.2				
(XX)	Glc	4.40	3.40	3.59	4.03	3.38			7.9	8.9					
	Gal	4.45	3.57	3.49	4.07										
	GalN	5.12			5.45		3.80–4.10		8.4		2.8				
	Gal'	4.61	5.07	4.86	5.33		4.15–4.27		8.1	10.1	2.4				
	Gal	4.40	3.44	3.59	4.02	3.40	3.70	3.78	8.2	8.7	9.0			4.2	10.7
(XXI)	Gal	4.42	3.57	3.38	3.96	3.42	4.12	4.57	8.4		2.5				
	GalN	5.09	3.72	4.37	5.40	3.70	3.86	4.07	8.3	10.4	3.0				
	Gal'	4.54	5.06	4.86	5.35	3.83	4.18		9.4	7.9	3.2		6.5	6.6	
	Gal	4.54	3.38		3.63				8.2	10.1					
	Gal	4.44	3.42	3.78	4.12	3.60–3.80	3.72–4.0		7.4	10.2	2.1				
(XXII)	GalN	4.70	4.03	3.90	4.17				9.5	10.5	3.0				
	Gal'	4.46	3.54	3.62	3.92				7.5	9.8	3.1				

* Сигналы: H7, H8, H9: 3.57–4.0.

** Сигналы: H7 5.29. (J_{7,8} 7.6); H8 5.38; H9_a 3.96; H9_b 4.32; NHAc 5.52.

Другие сигналы: CH₃COO 1.9–2.1; C₆H₅COO 7.7–8.0; C₆H₅CH₂ 6.8–7.5; C₆H₅CH₂ 4.5–4.9; OCH₂CH₂Cl 3.58; OCH₂CH₂Cl 3.68–4.07; OCH₂CH₂N₃ 3.38–3.58; OCH₂CH₂N₃ 3.67–4.10; NHС(O)CCl₃ 6.8; OCH₂CH₂NH₂ 3.26; OCH₂CH₂NH₂ 3.94 и 4.12 м. д.; С(O)OCH₃ 3.7; CH₃OPhCH₂ 3.84; CH₃OPhCH₂ 6.85–6.95.

В CD₃OD: OCH₂CH₂N₃ 3.45; OCH₂CH₂N₃ 3.72, 4.01; PhCH(OR)OR' 5.81; (CH₃)₂C(OR)OR' 1.57, 1.30.

В D₂O: CH₃CONH 2.0–2.1; OCH₂CH₂NH₂ 3.9–4.2; OCH₂CH₂NH₂ 3.22–3.28.

Таблица 2. Данные спектров ^{13}C -ЯМР соединений (I), (XXI) (D_2O), (XIV) (CD_3OD) и (IX), (XI)–(XIII), (XV)–(XX), (XXII) (CDCl_3)

Соединение	Остаток	Химический сдвиг (δ), м.д.					
		C1	C2	C3	C4	C5	C6
(I)	Glc	102.9	71.3	75.8	79.4		
	Gal	103.5	74.0	75.9	77.4	73.0–77.0	61.0–65.0
	GalN	103.3	52.2	81.6	69.2		
	Gal'	105.6	72.1	74.0	70.0		
	Neu5Ac	174.0	101.7	38.3		74.5	
(IX)	Glc	100.8	71.3	72.5	76.1	72.7	61.8
	Gal	101.0	69.0	70.9	66.6	70.6	60.7
(XI)	Glc	104.1	74.8	76.1	80.7	76.2	61.7
	Gal	103.9	74.2	80.6	74.6	75.1	62.1
(XII)	Glc	103.6	81.7	82.6	76.5	75.1	68.2
	Gal	102.6	79.9	73.5	68.8	72.8	68.6
(XIII)	Glc	103.6	81.7	82.7	76.5	74.9	68.4
	Gal	102.5	79.3	80.8	72.8	66.1	68.2
(XIV)	Glc	104.8	75.2	77.0	80.5	77.0	62.2
	Gal	105.3	72.2	73.9	77.8	68.7	70.6
(XV)	Glc	103.7	81.7	82.7	76.7	75.1	68.2
	Gal	102.6	79.3	81.0	67.1	74.0	62.3
(XVI)	Glc	103.7	81.8	82.5	76.6	75.0	68.3
	Gal	102.4	79.3	81.0	66.5	72.0	63.0
(XVII)	Glc	103.3	81.6	82.7	76.1	74.7	68.2
	Gal	102.1	78.2	76.1	67.7	72.3	68.2
	Neu5Ac*	168.2	98.2	36.2	68.9	48.8	72.5
(XVIII)	Glc	103.4	81.5	82.6	76.3	75.0	69.0
	Gal	102.2	78.6	75.7	68.3	73.1	68.0
	GalN	100.3	54.5	70.2	68.0		61.9
	Gal'	100.6	68.3	70.5	66.5	70.5	61.6
	Neu5Ac**	168.4	99.2	35.3	69.0	49.4	71.7
(XIX)	Glc	103.7	81.7	82.9	76.3	75.2	69.0
	Gal	102.2	80.7	80.9	72.8	73.2	68.3
	GalN	99.3	55.5	73.5	69.1	71.3	61.0
	Gal'	100.5	68.6	70.5	66.8	71.0	62.1
(XX)	Glc	103.6	81.6	82.5	75.7	75.1	68.3
	Gal	102.1	81.0	74.8	73.6	71.1	69.2
	GalN	99.8	55.7	74.1	68.7	70.8	62.1
	Gal'	100.5	68.7	69.1	66.8	70.6	61.1
(XXI)	Glc	103.6	81.6	82.5	76.0	74.9	68.2
	Gal	102.2	80.2	81.1	72.4	71.9	63.5
	GalN	98.9	55.6	73.0	68.9	71.2	62.0
	Gal'	100.5	68.7	70.6	66.9	70.8	61.1
(XXII)	Glc	103.2	73.9		79.6		
	Gal	104.2	72.3	73.7	77.3	75.4–76.3	61.2–62.2
	GalN	103.6	52.8	81.0	69.3		
	Gal'	106.0	71.9	73.7	69.8		

* Сигналы: C7 67.1, C8 69.0, C9 62.1.

**Сигналы: C7 66.5, C8 69.0, C9 60.4.

Другие сигналы: $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ 64.8; $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ 38.4; $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$ 42.3; $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$ 69.8; CH_3CONH 22.6; $\text{C}(\text{O})\text{OCH}_3$ 52.7; CH_3CONH 175.5; $\text{C}(\text{O})\text{OCH}_3$ 168.2; $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$ 127.5–128.5; $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$ 72.1–75.6; $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$ 51.0; $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$ 68.1–68.2; $\text{C}_6\text{H}_5\text{COO}$ 166.3; $\text{C}_6\text{H}_5\text{COO}$ 129.8–139.0; CH_3COO 169.6–170.2; CH_3COO 20.5–20.7; $\text{CH}_3\text{OPhCH}_2$ 55.2; $\text{CH}_3\text{OPhCH}_2$ 113.8.
 В CD_3OD : $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$ 51.8; $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$ 69.1, 4.01; $\text{PhCH}(\text{OR})\text{OR}'$ 102.7; $(\text{CH}_3)_2\text{C}(\text{OR})\text{OR}$ 28.1, 26.2; $(\text{CH}_3)_2\text{C}(\text{OR})\text{OR}'$ 110.8.
 В D_2O : CH_3CONH 23.3; $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ 67.0; $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ 40.4; CH_3CONH 176.0; COOH 174.0.

заканчивались элиминированием этантиола из гликозилдатора, в то время как гликозиллацептор оставался непрореагировавшим. Сходные проблемы уже наблюдались ранее в синтезах GM₁ по данной схеме [8, 9]. По-видимому, низкая реакционная способность гликозиллацепторов использованного типа обусловлена наличием водородной связи между амидной группой в остатке GalN и гидроксильной группой при C3', так как при замене амидной группы на азидную в остатке GalN оказывается возможным провести сиалилирование, хотя и с невысоким выходом [8].

Для получения 2-аминоэтилгликозида асиало-GM₁ необходимо было синтезировать акцепторный лактозный блок типа (VII), содержащий азидоэтильный преспейсер и свободную гидроксильную группу при C4'. В качестве последнего нами был предложен лактозид (XVI), для получения которого использовалась последовательность превращений, изображенная на схеме 2. Полное дезацетилирование азиды (X) и направленное 4',6'-O-бензилиденирование полученного гептаола диметилацетатом бензальдегида в присутствии толуолсульфокислоты приводило к пентаолу (XIV) с выходом 89%. Последний исчерпывающе бензилиировали, удаляли бензилиденную группу и региоизбирательно 6'-O-бензоилиировали [12] полученный диол (XV) с образованием спирта (XVI), с общим выходом 79%, считая на пентаол (XIV). Наличие бензоильной группы при O6' в соединении (XVI) подтверждалось более слабopольным химическим сдвигом сигналов протонов H6'_a 4.29 и H6'_b 4.54 м.д. в спектре ¹H-ЯМР (табл. 1) по сравнению с сигналами этих протонов в диоле (XV), находящимися в области 3.60–3.65 м.д. Присутствие свободной OH-группы при C4' подтверждалось сильнопольным химическим сдвигом сигнала H4' 3.92 м.д., который также имел дополнительное расщепление в результате спин-спиновой взаимодействия с протоном OH-группы.

При гликозилировании моногидроксильного производного (XVI) тиогликозидом (II) [11] в дихлорметане в присутствии NIS и TfOH было получено производное асиало-GM₁ (XXI) с выходом 69% (схема 4). β-Конфигурация остатка GalN в соединении (XXI) однозначно подтверждалась характеристической величиной KССВ J_{1",2"} 8.7 Гц в спектре ¹H-ЯМР (табл. 1), а наличие именно (1 → 4)-связывания – слабopольным положением сигнала C4 остатка Gal (72.4 м.д.) в спектре ¹³C-ЯМР (табл. 2).

Омыление сложноэфирных и трихлорацетамидной групп, гидрогенолиз и восстановление азидной группы в производном (XXI) проводили в условиях, аналогичных превращению (XVIII) в продукт (I). Целевое производное асиало-GM₁ (XXII) выделили гель-фильтрацией с общим

выходом 72%, считая на исходный (XXI). Строеие соединения (XXII), в частности конфигурации аномерных центров, направления межзвеньевых связей и наличие аминоэтильного агликона (δ C_H2NH₂ 38.4 м.д.), подтверждено данными спектров ¹H- (табл. 1) и ¹³C-ЯМР (табл. 2).

Таким образом, синтезированы аминоэтилгликозиды олигосахаридных цепей ганглиозидов асиало-GM₁ и GM₁. Продемонстрирована эффективность использования тиогликозидных гликозилдаторов типа (II) для получения олигосахаридных структур, имеющих в своем составе цепь ганглиотетраозы. Проведено высокоэффективное гликозилирование лактозного диола (VIII) тиогликозидным сиалилдонором (III) с образованием трисахаридной цепи ганглиозида GM₃.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Методики очистки растворителей и реагентов, условия съемки спектров ЯМР и определения физико-химических констант аналогичны приведенным в работе [18]. Реагенты CAN, MPM-Cl, Bu₂SnO и NIS приобретены у фирмы Aldrich. Спектры ¹H- и ¹³C-ЯМР регистрировали на приборах Bruker DRX-500 и Bruker AM-300 при 25°C. Оптическое вращение измеряли на цифровом поляриметре Jasco DIP-360 при 18–25°C. Хроматографию в тонком слое проводили на пластинках с силикагелем Kieselgel-60 (Merck), вещества обнаруживали обработкой 10% (по объему) раствором ортофосфорной кислоты в этиловом спирте или (для аминов) раствором нингидрина (3 г/л в смеси бутанол–уксусная кислота, 30 : 1) с последующим нагреванием при ~150°C. Колоночную хроматографию выполняли на силикагеле Silica gel 60 (Fluka) 0.063–0.2 мм. Хроматографию MPLC выполняли на колонках с силикагелем Silasorb 600 (20 мкм, Chemapol); хроматографию на обращенной фазе – на колонке Chromosphere 5 C18 (Chrompack) при элюировании водой. Гель-хроматографию осуществляли на колонках с гелем Sephadex LH-20 (2 × 40 см) при элюировании метанолом со скоростью потока 1 мл/мин, Bio-Beads S-X3 (68 × 2.5 см, Bio-Rad) при элюировании толуолом и TSK-HW40s (1.5 × 90 см) при элюировании 0.1 М водной уксусной кислотой со скоростью потока 1 мл/мин. Гидрогенолиз проводили над 10% Pd/C (Merck) при атмосферном давлении. ТСХ свободных аминоэтилгликозидов проводили в смесях элюотропных систем БПС (бутанол–пропанол–0.1 М соляная кислота, 1 : 2 : 1) и АМВ (ацетонитрил–метанол–вода, 1 : 1 : 1).

(2-Хлорэтил)-2,3,6-три-O-ацетил-4-O-(2,3,4,6-тетра-O-ацетил-β-D-галактопиранозил)-β-D-глюкопиранозид (IX). Раствор 2.02 г (2.9 ммоль) ацетилированного лактозилбромиды (VIII) в сухом 2-хлорэтаноле (4 мл) перемешивали при 60°C с

729 мг (2.88 ммоль) цианида ртути и 110 мг (0.31 ммоль) бромида ртути 4 ч при комнатной температуре (далее – к. т.). Реакционную смесь разбавляли дихлорметаном (150 мл). Органический слой промывали насыщенным раствором NaHCO_3 (2×50 мл), водой (70 мл) и упаривали. Остаток хроматографировали в системе толуол–этилацетат (2 : 1) и получали 1.5 г (74%) гликозида (IX), белая пена, R_f 0.54 (толуол–этилацетат, 3 : 2), $[\alpha]_D +9.0^\circ$ (с 1, хлороформ).

(2-Азидоэтил)-2,3,6-три-О-ацетил-4-О-(2,3,4,6-тетра-О-ацетил-β-D-галактопиранозил)-β-D-глюкопиранозид (X). Суспензию 2.15 мг (33 ммоль) NaN_3 в растворе 2.81 г (3.3 ммоль) хлорэтилгликозида (IX) и 871 мг (3.3 ммоль) 18-краун-6 в DMF (12 мл) перемешивали в течение 18 ч при 65°C . Смесь разбавляли этилацетатом (350 мл), промывали водой (4×150 мл), фильтровали через слой ваты, упаривали и получали 2.27 г (97%) азид (X), белая пена, R_f 0.62 (толуол–этилацетат, 3 : 2), $[\alpha]_D -16.5^\circ$ (с 2, этилацетат). Найдено, %: С 48.18, Н 5.71, N 6.24; $\text{C}_{28}\text{H}_{54}\text{O}_{18}\text{N}_3$. Вычислено, %: С 47.66, Н 5.53, N 5.96.

(2-Азидоэтил)-4-О-(3,4-О-изопропилиден-β-D-галактопиранозил)-β-D-глюкопиранозид (XI). Раствор 5.17 г (7.33 ммоль) азидоэтиллактозида (X) в 35 мл 0.1 н. раствора метилата натрия в метаноле выдерживали 24 ч и нейтрализовали катионитом КУ-2 (H^+), фильтровали, катионит промывали метанолом (2×10 мл), фильтраты объединяли и концентрировали на роторном испарителе. Остаток 2 ч высушивали в вакууме масляного насоса, растворяли в смеси 6 мл 2,2-диметоксипропана, 1.8 мл ацетона и 23 мг моногидрата *n*-толуолсульфонокислоты и перемешивали 5 мин при 60°C . Смесь охлаждали до к. т., выпавшие кристаллы отфильтровывали и промывали 5 мл холодного ацетона, объединенные фильтраты концентрировали, выпавший осадок перекристаллизовывали из 1 мл ацетона. После высушивания в вакууме масляного насоса получали 2.73 г (82%) ацетонида (XI), бесцветные кристаллы, т. пл. $167\text{--}169^\circ\text{C}$, R_f 0.50 (этилацетат–метанол, 3 : 1), $[\alpha]_D + 19.8^\circ$ (с 1, метанол).

(2-Азидоэтил)-2,3,6-три-О-бензил-4-О-(2,6-ди-О-бензил-β-D-галактопиранозил)-β-D-глюкопиранозид (XII). К раствору 0.5 г (1.07 ммоль) ацетонида (XI) в сухом DMF (10 мл), охлажденному до 0°C , при перемешивании прибавляли 430 мг (60% суспензия в масле, 10.8 ммоль) NaN . После прекращения выделения газа при перемешивании прикапывали 760 мкл (6.4 ммоль) VnVg . Выдерживали 4 ч, избыток NaN разлагали метанолом (2 мл). К реакционной смеси прибавляли 90% AcOH (10 мл) и нагревали на масляной бане до 80°C в течение 5 часов. Реакционную смесь разбавляли этилацетатом (100 мл), промывали водой (2×100 мл) и насыщенным раствором NaCl (50 мл).

Органический слой отделяли, упаривали и из остатка колоночной хроматографией (толуол–этилацетат, 3 : 1) выделяли 900 мг (98%) дисахарида (XII), белая пена, R_f 0.23 (дихлорметан–этилацетат, 10 : 1), $[\alpha]_D +15.2^\circ$ (с 2, CHCl_3).

(2-Азидоэтил)-2,3,6-три-О-бензил-4-О-[2,6-ди-О-бензил-3-О-(4-метоксибензил)-β-D-галактопиранозил]-β-D-глюкопиранозид (XIII). К раствору 170 мг (0.2 ммоль) диола (XII) в толуоле (10 мл) прибавляли 60 мг (0.24 ммоль) Bu_2SnO и кипятили с азеотропной отгонкой воды в течение 1 ч. К реакционной смеси прибавляли 30 мкл (0.22 ммоль) MPM-Cl , 64 мг (0.2 ммоль) Bu_4NBg и кипятили 1.5 ч. Реакционную смесь упаривали, из остатка колоночной хроматографией (дихлорметан–этилацетат, 15 : 1) выделяли 180 мг (93%) дисахарида (XIII), белая пена, R_f 0.67 (дихлорметан–этилацетат, 10 : 1), $[\alpha]_D +24.2^\circ$ (с 2, CHCl_3).

(2-Азидоэтил)-4-О-(4,6-О-бензилиден-β-D-галактопиранозил)-β-D-глюкопиранозид (XIV). Раствор 4.3 г (6.1 ммоль) азидоэтиллактозида (X) в 30 мл 0.1 н. раствора метилата натрия в метаноле выдерживали 24 ч и нейтрализовали катионитом КУ-2 (H^+), фильтровали, катионит промывали метанолом (2×10 мл), фильтраты объединяли и концентрировали на роторном испарителе. Остаток 2 ч высушивали в вакууме масляного насоса, растворяли в смеси 36 мл сухого ацетонитрила, 1.5 мл диметилацетата бензальдегида и 105 мг моногидрата *n*-толуолсульфонокислоты и перемешивали 25 мин при 60°C . Смесь охлаждали до к. т., выпавшие кристаллы отфильтровывали и промывали 25 мл этилацетата, объединенные фильтраты концентрировали и перекристаллизовывали из 2 мл этилацетата. После высушивания в вакууме масляного насоса получали 2.57 г (84%) кристаллического бензилиденного производного (XIV), бесцветные кристаллы, т. пл. $205\text{--}207^\circ\text{C}$, R_f 0.21 (этилацетат), $[\alpha]_D -21.4^\circ$ (с 1, метанол). Колоночной хроматографией в этилацетате было получено еще 163 мг (5%) пентаола (XIV) в виде белой пены.

(2-Азидоэтил)-2,3,6-три-О-бензил-4-О-(2,3-ди-О-бензил-β-D-галактопиранозил)-β-D-глюкопиранозид (XV). К раствору 230 г (0.51 ммоль) пентаола (XIV) в сухом DMF (3.8 мл) при охлаждении (0°C) и перемешивании прибавляли 122 мг (60% суспензия в масле, 3.05 ммоль) NaN . После прекращения выделения газа при перемешивании прикапывали 360 мкл (3.05 ммоль) VnVg . Выдерживали 4 ч, избыток NaN разлагали метанолом (1 мл). Реакционную смесь разбавляли этилацетатом (50 мл), промывали водой (2×30 мл) и насыщенным раствором NaCl (20 мл). Органический слой отделяли, упаривали, остаток растворяли в смеси 5 мл хлороформа и 90% трифторуксусной кислоты (2 мл), выдерживали 30 мин и на роторном испарителе соупаривали с толуолом. Из

остатка колоночной хроматографией (толуол–этилацетат, 2 : 1) выделяли 426 мг (97%) дисахарида (XV), белая пена, R_f 0.19 (толуол–этилацетат, 2 : 1), $[\alpha]_D + 24.5^\circ$ (с 4, этилацетат). Найдено, %: С 69.16, Н 6.36, N 5.12; $C_{28}H_{54}O_{18}N_3$. Вычислено, %: С 68.29, Н 6.38, N 4.88.

(2-Азидоэтил)-2,3,6-три-*O*-бензил-4-*O*-(2,3-ди-*O*-бензил-6-*O*-бензоил- β -*D*-галактопиранозил)- β -*D*-глюкопиранозид (XVI). К охлажденному до 0°C раствору 385 мг (0.447 ммоль) диола (XV) в смеси сухого дихлорметана (10 мл) и сухого пиридина (110 мкл) при интенсивном перемешивании прибавляли 50 мкл (0.5 ммоль) бензоилхлорида. Реакционную смесь перемешивали 2 ч при 0°C и разбавляли дихлорметаном (50 мл) и водой (10 мл). Органический слой отделяли, промывали 1 М H_2SO_4 (40 мл), водой (2 \times 40 мл) и насыщенным раствором NaHCO_3 (20 мл), фильтровали через слой ваты, упаривали и из остатка колоночной хроматографией (толуол–этилацетат, 3 : 1) выделяли 351 мг (81%) продукта (XVI), R_f 0.36 (толуол–этилацетат, 10 : 1), $[\alpha]_D + 18.4^\circ$ (с 2.8, этилацетат).

(2-Азидоэтил)-[метил (5-ацетидамо-4,7,8,9-тетра-*O*-ацетил-3,5-дидезокси-*D*-глицеро- α -*D*-галакто-2-нонупиранозил)онат]-(2 \rightarrow 3)-(2,6-ди-*O*-бензил- β -*D*-галактопиранозил)-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-три-*O*-бензил- β -*D*-глюкопиранозид (XVII). Раствор 300 мг (0.35 ммоль) дисахарида (XII) и 373 мг (0.7 ммоль) гликозилдатора (IV) в абсолютном ацетонитриле (6 мл) перемешивали с предварительно прокаленными молекулярными ситами MS-3A (600 мг) в течение 2 ч при к. т. Прибавляли 190 мг (0.84 ммоль) NIS и перемешивали еще 30 мин при к. т., реакционную смесь охлаждали до -40°C и прибавляли 10 мкл TfOH. Перемешивали 2 ч при $-40\dots-30^\circ\text{C}$, прибавляли насыщенный раствор NaHCO_3 (2 мл) и 1 М раствор $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (2 мл), перемешивали еще 15 мин. Реакционную смесь фильтровали через слой целита, фильтрат разбавляли дихлорметаном (100 мл), промывали раствором NaHCO_3 (100 мл), органическую фазу отделяли и упаривали. Остаток, для отделения побочно образующегося гликала, сначала пропускали через колонку с гелем Bio-Beads S-X3, а полученную смесь ди- и трисахаридов разделяли колоночной хроматографией (толуол–этилацетат, 2 : 1). Выделяли 44 мг исходного гликозиллацептора (XII) и 313 мг (79%, считая на прореагировавший (XII) трисахарида (XVII), белая пена, R_f 0.4 (толуол–этилацетат, 2 : 1), $[\alpha]_D + 4.1^\circ$ (с 1, CHCl_3).

Методика гликозилирования при получении олигосахаридов (XVIII), (XIX), (XXI). Эквимольную смесь гликозилдатора (II) и гликозиллацептора трижды соупаривали с толуолом для удаления следов воды, растворяли (в атмосфере аргона) в свежеперегнанном абсолютном дихлорметане и

передавливали в токе аргона в реакционную колбу, содержащую предварительно прокаленные в вакууме (2 ч при 200°C) молекулярные сита MS-4A. Реакционную смесь перемешивали 2 ч при к. т., затем прибавляли 1.2–1.3 мольный избыток NIS и перемешивали еще 30 мин при к. т. Реакционную смесь охлаждали до -30°C и прибавляли по каплям 10% (по объему) раствор TfOH в CH_2Cl_2 . Перемешивали 1–1.5 ч при -30°C , контролируя ход реакции с помощью ТСХ. После полной выработки гликозилдатора реакцию останавливали, прибавляя насыщенный раствор NaHCO_3 (2 мл) и 1 М раствор $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (2 мл), убирали охлаждение и перемешивали еще 15 мин при к. т. Реакционную смесь фильтровали через слой целита, фильтрат разбавляли дихлорметаном (70 мл), промывали раствором NaHCO_3 (50 мл), органическую фазу отделяли и упаривали. Продукты реакций выделяли хроматографией.

(2-Азидоэтил)-(2,3,4,6-тетра-*O*-ацетил- β -*D*-галактопиранозил)-(1 \rightarrow 3)-(4,6-ди-*O*-ацетил-2-дезокси-2-трихлорацетидамо- β -*D*-галактопиранозил)-(1 \rightarrow 4)-[метил (5-ацетидамо-4,7,8,9-тетра-*O*-ацетил-3,5-дидезокси-*D*-глицеро- α -*D*-галакто-2-нонупиранозил)онат]-(2 \rightarrow 3)]-(2,6-ди-*O*-бензил- β -*D*-галактопиранозил)-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-три-*O*-бензил- β -*D*-глюкопиранозид (XVIII). Реакцию 220 мг (0.16 ммоль) трисахарида (XVII) и 163 мг (0.16 ммоль) тиогликозида (II) в абсолютном дихлорметане (4 мл) в присутствии молекулярных сит MS-4A (400 мг) промотировали 45 мг (0.2 ммоль) NIS и 100 мкл раствора TfOH в CH_2Cl_2 . После стандартной обработки смесь пропускали через слой силикагеля (хлороформ–ацетон, 5 : 1) и затем разделяли на колонке с гелем Bio-Beads S-X3. Выделяли 30 мг непрореагировавшего гликозиллацептора и 250 мг (85%, на прореагировавший (XVII) пентасахарида (XVIII), белая пена, R_f 0.2 (хлороформ–ацетон, 5 : 1). Найдено, %: С 55.39; Н 5.59; N 3.41; $C_{95}H_{114}Cl_3N_5O_{39}$. Вычислено, %: С 55.49; Н 5.59; N 3.41. $[\alpha]_D - 2.8^\circ$ (с 1, CHCl_3).

(2-Азидоэтил)-(2,3,4,6-тетра-*O*-ацетил- β -*D*-галактопиранозил)-(1 \rightarrow 3)-(4,6-ди-*O*-ацетил-2-дезокси-2-трихлорацетидамо- β -*D*-галактопиранозил)-(1 \rightarrow 4)-[2,6-ди-*O*-бензил-3-*O*-(4-метоксибензил)- β -*D*-галактопиранозил]-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-три-*O*-бензил- β -*D*-глюкопиранозид (XIX). Реакцию 180 мг (0.18 ммоль) дисахарида (XIII) и 190 мг (0.19 ммоль) гликозилдатора (II) в абсолютном дихлорметане (4 мл) в присутствии молекулярных сит MS-4A (400 мг) промотировали 52 мг (0.23 ммоль) NIS и 100 мкл раствора TfOH в CH_2Cl_2 . После стандартной обработки колоночной хроматографией (толуол–этилацетат, 2 : 1) выделяли 196 мг (63%) тетрасахарида (XIX), белая пена, R_f 0.45 (толуол–этилацетат, 2 : 1).

(2-Азидоэтил)-(2,3,4,6-тетра-*O*-ацетил- β -*D*-галактопиранозил)-(1 \rightarrow 3)-(4,6-ди-*O*-ацетил-2-дезоксид-2-трихлорацетида- β -*D*-галактопиранозил)-(1 \rightarrow 4)-(2,6-ди-*O*-бензил- β -*D*-галактопиранозил)-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-три-*O*-бензил- β -*D*-глюкопиранозид (XX). Раствор 196 мг (0.12 ммоль) тетрасахарида (XIX) и 315 мг (0.57 ммоль) CAN в смеси ацетонитрил-вода, 9 : 1 (5 мл) перемешивали 14 ч при к. т. Реакционную смесь разбавляли дихлорметаном (75 мл), промывали раствором NaHCO_3 (50 мл), органический слой отделяли и упаривали. Из остатка колоночной хроматографией (дихлорметан-этилацетат, 2 : 1) выделяли 163 мг (90%) спирта (XX), белая пена, R_f 0.64 (дихлорметан-ацетон, 5 : 1).

(2-Азидоэтил)-(2,3,4,6-тетра-*O*-ацетил- β -*D*-галактопиранозил)-(1 \rightarrow 3)-(4,6-ди-*O*-ацетил-2-дезоксид-2-трихлорацетида- β -*D*-галактопиранозил)-(1 \rightarrow 4)-(2,3-ди-*O*-бензил-6-*O*-бензоил- β -*D*-галактопиранозил)-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-три-*O*-бензил- β -*D*-глюкопиранозид (XXI). Реакцию 205 мг (0.21 ммоль) дисахарида (XVI) и 210 мг (0.21 ммоль) гликозилдонора (II) в абсолютном дихлорметане (5 мл) в присутствии молекулярных сит MS-4 \AA (500 мг) промотировали 57 мг (0.25 ммоль) NIS и 150 мкл раствора TfOH в CH_2Cl_2 . После стандартной обработки колоночной хроматографией (дихлорметан-этилацетат, 4 : 1) выделяли 53 мг исходного гликозилакцептора и 184 мг (69%, на прореагировавший (XVI)) тетрасахарида (XXI), белая пена, R_f 0.59 (дихлорметан-этилацетат, 10 : 3). $[\alpha]_D^{+5.9}$ (с 1, CHCl_3).

(2-Аминоэтил)- β -*D*-галактопиранозил-(1 \rightarrow 3)-2-дезоксид-2-ацетида- β -*D*-галактопиранозил-(1 \rightarrow 4)- β -*D*-галактопиранозил-(1 \rightarrow 4)- β -*D*-глюкопиранозид (XXII). 72 мг (0.043 ммоль) тетрасахарида (XXI) растворяли в 10% водном метаноле (5 мл), добавляли NaOH (200 мг), перемешивали до полного растворения и выдерживали 6 ч при 40°C, а затем еще 14 ч при к. т. Охлаждали до 0°C и по каплям прибавляли Ac_2O до pH 6 (контроль по универсальному pH-индикатору, Merck), деионизовали катионитом КУ-2 (H^+), катионит отфильтровывали, промывали метанолом (3 \times 10 мл), фильтраты объединяли, упаривали и остаток хроматографировали на колонке с сефадексом LH-20. Углеводсодержащие фракции упаривали, высушивали в вакууме масляного насоса, сухой остаток растворяли в 10% водном этаноле (3 мл), добавляли Wos_2O (100 мг), каталитическое количество Pd/C и перемешивали 14 ч в атмосфере водорода при к. т. до полного удаления бензильных групп (контроль ТСХ). Реакционную смесь фильтровали через слой целита, целит промывали водным метанолом в градиенте метанол/вода: 100-0% (30 мл), добавляли 90% водную CF_3COOH (2 мл), выдерживали 30 мин, упаривали и соупаривали с водой до удаления запаха кислоты. Из остатка хроматографией на колонке с гелем TSK-

NW40s выделяли 23 мг (72%) аминоэтилгликозида (XXII), R_f 0.23 (БПС-АМВ, 1 : 1). $[\alpha]_D -13.8^\circ$ (с 1, вода).

(2-Аминоэтил)- β -*D*-галактопиранозил-(1 \rightarrow 3)-(2-ацетида-2-дезоксид- β -*D*-галактопиранозил)-(1 \rightarrow 4)-[5-ацетида-3,5-дидезокси-*D*-глицеро- α -*D*-галакто-2-ноулопиранозил-(2 \rightarrow 3)]- β -*D*-галактопиранозил-(1 \rightarrow 4)- β -*D*-глюкопиранозид (I). Пентасахарид (XVIII) 88 мг (0.043 ммоль) дезацелировали, *N*-ацелировали, а затем подвергали гидронолизу и восстановлению азидогруппы в условиях, использовавшихся для синтеза (XXII). После хроматографии на колонке Chromosphere 5 C18 выделяли 38 мг (85%) аминоэтилгликозида (I), R_f 0.38 (БПС-АМВ, 1 : 1), $[\alpha]_D +8.5^\circ$ (с 1, вода).

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 00-0332815а) и Фонда содействия отечественной науке.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Joubert-Caron R., Lutowski D., Bladier D., Caron M. // *Glycosciences: Status and Perspectives* / Ed. Gabius H.-J., Gabius S. London: Chapman & Hall, 1997. P. 611-617.
- Liu F.-T., Patterson R. J., Wang J. L. // *Biochem. Biophys. Acta*. 2002. V. 1572. P. 263-273.
- Hernandes J.D., Baum L.G. // *Glycobiology*. 2002. V. 12. P. 127R-136R.
- Trends in Glycosci. and Glycotechnol. Recent Topics on Galectins. Minireviews, 1997. V. 9. P. 1-77.
- Kopitz J., von Reitzenstein C., Burchert M., Cantz M., Gabius H.-J. // *J. Biol. Chem.* 1998. V. 273. P. 11205-11211.
- Sugimoto M., Numata M., Koike K., Nakahara Y., Ogawa T. // *Carbohydr. Res.* 1986. V. 156. C1.
- Hasegawa A., Nagahama T., Kiso M. // *Carbohydr. Res.* 1992. V. 235. C13.
- Stauch T., Greilich U., Schmidt R.R. // *Liebigs Ann.* 1995. P. 2101-2111.
- Bhattacharya S.K., Danishefsky S.J. // *J. Org. Chem.* 2000. V. 65. P. 144-151.
- Ito Y., Nunomura S., Shibayama S., Ogawa T. // *J. Org. Chem.* 1992. V. 57. P. 1821-1831.
- Чешев П.Е., Кононов Л.О., Цветков Ю.Е., Шапков А.С., Нифантьев Н.Э. // *Биоорг. и химия*. 2002. Т. 28. С. 462-473.
- Чешев П.Е., Хатунцева Е.А., Гербст А.Г., Цветков Ю.Е., Шапков А.С., Нифантьев Н.Э. // *Биоорг. химия*. 2003. Т. 29. С. 408-418.
- Marra A., Synay P. // *Carbohydr. Res.* 1989. V. 187. P. 35-42.
- Youssef R.H., Silwanis B.A., El-Sokkary R.I., Nematala A.S., Nashed M.A. // *Carbohydr. Res.* 1993. V. 240. P. 287-293.

15. Hasegawa A., Kiso M. // Preparative Carbohydrate Chemistry/Ed. Hanessian S. New York; Basel; Hong Kong: Marcel Dekker Inc., 1997. P. 357–381.
16. Boons G.-J., Demchenko A.V. // Chem. Rev. 2000. V. 100. P. 4539–4565.
17. Yudina O.N., Sherman A.A., Nifant'ev N.E. // Carbohydr. Res. 2001. V. 332. P. 365–371.
18. Нифантьев Н.Э., Бакиновский Л.В., Липкин Г.М., Шапков А.С., Кочетков Н.К. // Биооргани. химия. 1991. Т. 17. С. 517–530.

Synthesis of Aminoethyl Glycosides of the Ganglioside GM₁ and Asialo-GM₁ Oligosaccharide Chains

P. E. Cheshev, E. A. Khatuntseva, Yu. E. Tsvetkov, A. S. Shashkov, and N. E. Nifantiev[#]

[#] Phonelfax: +7 (095) 138-8784; e-mail: nen@ioc.ac.ru

Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Leninskii pr. 47, Moscow, 119991 Russia

4'-*O*-Glycosylation of 2-azidoethyl 2,3,6-tri-*O*-benzyl-4-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-benzoyl- β -*D*-galactopyranosyl)- β -*D*-glucopyranoside with a disaccharide donor, 4-trichloroacetamidophenyl 4,6-di-*O*-acetyl-2-deoxy-3-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -*D*-galactopyranosyl)-1-thio-2-trichloroacetamido- β -*D*-galactopyranoside, in dichloromethane in the presence of *N*-iodosuccinimide and trifluoromethanesulfonic acid resulted in a tetrasaccharide, 2-azidoethyl (2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -*D*-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-(4,6-di-*O*-acetyl-2-deoxy-2-trichloroacetamido- β -*D*-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-benzoyl- β -*D*-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-tri-*O*-benzyl- β -*D*-glucopyranoside, in 69% yield. The complete removal of *O*-protecting groups in the tetrasaccharide, the replacement of *N*-trichloroacetyl by *N*-acetyl group, and the reduction of the aglycone azide group to amine led to the target aminoethyl glycoside of β -*D*-Gal-(1 \rightarrow 3)- β -*D*-GalNAc-(1 \rightarrow 4)- β -*D*-Gal-(1 \rightarrow 4)- β -*D*-Glc-OCH₂CH₂NH₂ containing the oligosaccharide chain of asialo-GM₁ ganglioside in 72% overall yield. Selective 3'-*O*-glycosylation of 2-azidoethyl 2,3,6-tri-*O*-benzyl-4-*O*-(2,6-di-*O*-benzyl- β -*D*-galactopyranosyl)- β -*D*-glucopyranoside with thioglycoside methyl (ethyl 5-acetamido-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-3,5-dideoxy-2-thio-*D*-glycero- α -*D*-galacto-2-nonulopyranosyl)ate in acetonitrile in the presence of *N*-iodosuccinimide and trifluoroacetic acid afforded 2-azidoethyl [methyl (5-acetamido-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-3,5-dideoxy-*D*-glycero- α -*D*-galacto-2-nonulopyranosyl)ate]-(2 \rightarrow 3)-(2,6-di-*O*-benzyl- β -*D*-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-tri-*O*-benzyl- β -*D*-glucopyranoside, the selectively protected derivative of the oligosaccharide chain of GM₃ ganglioside, in 79% yield. Its 4'-*O*-glycosylation with a disaccharide glycosyl donor, (4-trichloroacetophenyl-4,6-di-*O*-acetyl-2-deoxy-3-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -*D*-galactopyranosyl) 1-thio-2-trichloroacetamido- β -*D*-galactopyranoside in dichloromethane in the presence of *N*-iodosuccinimide and trifluoroacetic acid gave 2-azidoethyl (2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -*D*-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-(4,6-di-*O*-acetyl-2-deoxy-2-trichloroacetamido- β -*D*-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-{[methyl (5-acetamido-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-3,5-dideoxy-*D*-glycero- α -*D*-galacto-2-nonulopyranosyl)ate]-(2 \rightarrow 3)}-(2,6-di-*O*-benzyl- β -*D*-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-tri-*O*-benzyl- β -*D*-glucopyranoside in 85% yield. The resulting pentasaccharide was *O*-deprotected, its *N*-trichloroacetyl group was replaced by *N*-acetyl group, and the aglycone azide group was reduced to afford in 85% overall yield aminoethyl glycoside of β -*D*-Gal-(1 \rightarrow 3)- β -*D*-GalNAc-(1 \rightarrow 4)-[α -*D*-Neu5Ac-(2 \rightarrow 3)]- β -*D*-Gal-(1 \rightarrow 4)- β -*D*-Glc-OCH₂CH₂NH₂ containing the oligosaccharide chain of GM₁ ganglioside. The English version of the paper: *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2004, vol. 30, no. 1; see also <http://www.maik.ru>.

Key words: aminoethyl glycosides, asialo-GM₁, gangliosides, glycosylation, GM₁, sialylation