



УДК 547.455.6' 118.057

© 1990 г.

*А. В. Николаев, И. А. Иванова, В. Н. Шубаев,
Н. К. Кочетков*

ФРАГМЕНТЫ БИОПОЛИМЕРОВ, СОДЕРЖАЩИХ ОСТАТКИ ГЛИКОЗИЛФОСФАТОВ

4*. СИНТЕЗ (1—2)-, (1—3)- И (1—4)-СВЯЗАННЫХ ГЛИКОЗИЛФОСФОСАХАРОВ ВОДОРОДФОСФОНАТНЫМ МЕТОДОМ

*Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского АН СССР,
Москва*

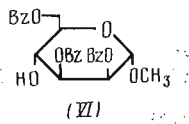
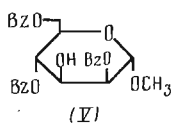
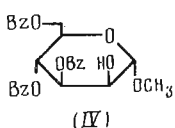
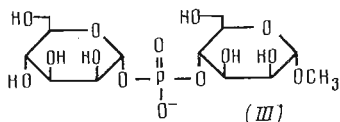
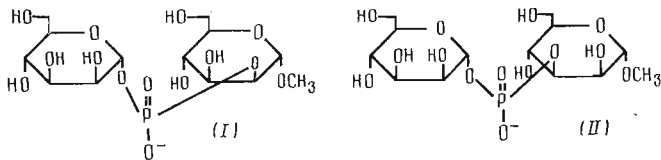
Синтезированы изомерные (1—2)-, (1—3)- и (1—4)-связанные метил- α -D-маннопиранозилфосфо- α -D-маннопиранозиды. Конденсация 2,3,4,6-тетра-O-бензил- α -D-маннопиранозилводородфосфоната с соответствующими моногидроксильными производными в присутствии триметилацетилхлорида с последующим окислением приводила к защищенным гликозилфосфосахарам с высокими выходами. Целевые соединения были получены удалением защитных групп стандартными методами. Приведены данные спектров ^1H -, ^{13}C - и ^{31}P -ЯМР синтезированных диэфиров фосфорной кислоты.

В предыдущем сообщении данной серии [1] мы сообщали о разработке водородфосфонатного метода синтеза гликозилфосфосахаров — фрагментов дрожжевых фосфогликанов и углеводных цепей некоторых гликопротеинов. Этот метод, основанный на конденсации гликозилводородфосфонатов с моногидроксильными производными сахаров и последующем окислении образующихся диэфиров водородфосфоновой кислоты, оказался высокоэффективен в синтезе ряда (1—6)-связанных гликозилфосфосахаров [1—3]. Более ранние примеры получения соединений этого класса, выполненные с использованием фосфатного диэфирного и фосфитного триэфирного подходов [4—6], за редким исключением, также посвящены синтезу производных с (1—6)-фосфодиэфирной связью. В то же время в гликозилфосфосахарах, входящих в состав полимеров капсулы многих бактерий, остаток гликозилфосфата соединен с соседним моно- или олигосахаридным звеном через вторичную гидроксильную группу. В свете этого задача синтеза (1—2)-, (1—3)- и (1—4)-связанных гликозилфосфосахаров весьма актуальна. В настоящей публикации мы сообщаем о применении для этой цели водородфосфонатного подхода на примере синтеза изомерных маннозилфосфоманнозидов (I)—(III).

Часть описываемого материала была опубликована в виде предварительного сообщения [7]. В литературе имеются данные о синтезе соединения (III) с помощью фосфодиэфирного метода [8].

Водородфосфонатный метод предполагает использование производного гликозилводородфосфоната для введения гликозилфосфатного фрагмента в молекулу гликозилфосфосахара. В качестве такого синтона в синтезе соединений (I)—(III) был использован O-бензилированный маннозилводородфосфонат (XIII) (см. схему 1), описанный нами ранее [1]. Моногидроксильными компонентами были частично бензоилированные производные (IV)—(VI), содержавшие свободные гидроксилы при C2, C3 и C4 соответственно. Применение O-бензильных и O-бензоильных защитных групп в синтезе обуславливалось возможностью их удаления в нейтральных и основных условиях. Использование кислотолabileльных защитных групп практически исключалось по причине нестабильности гликозилфосфатной связи гликозилфосфосахаров в кислой среде.

* Сообщение 3 см. [1].

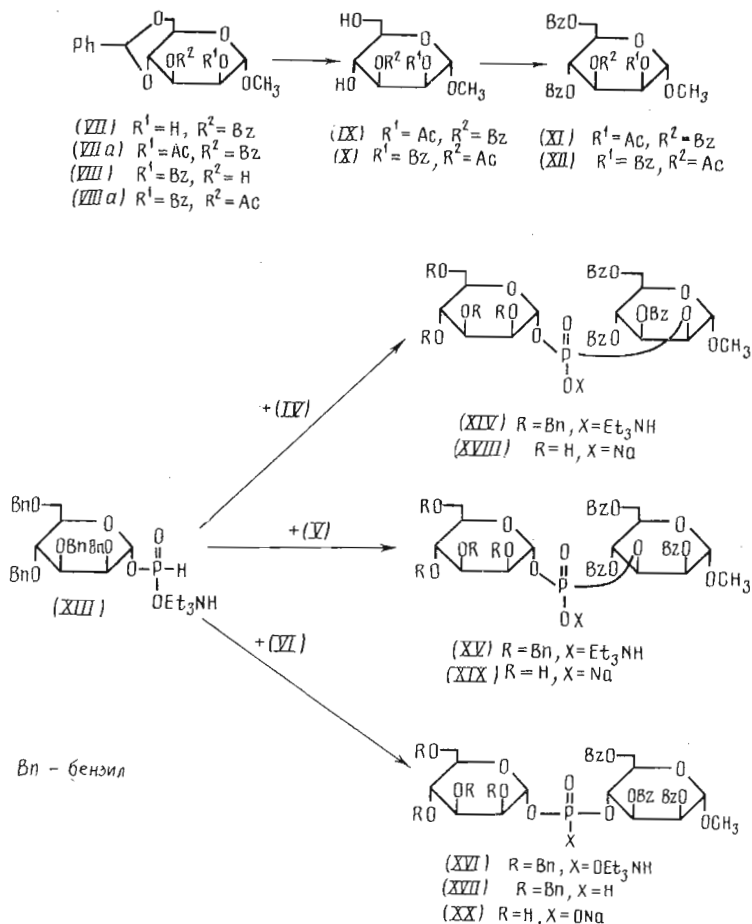


Соединения (IV) и (V) получали из частично защищенных 4,6-О-бензилиденовых производных (VII) [9] и (VIII) [10] (схема 1). Последовательным ацетилированием и кислотным гидролизом их превращали в диолы (IX) и (X). Дальнейшее бензоилирование приводило к изомерным моно-О-ацетатам три-О-бензоильных соединений (XI) и (XII). На заключительной стадии была использована предложенная в нашей лаборатории [11] методика деацетилирования в условиях кислого метанолиза, не затрагивающая бензоильные защитные группы. В результате моногидроксильные производные (IV) и (V) выделяли с суммарными выходами 53 и 63% соответственно. Соединение (VI) было получено избирательным бензоилированием метил- α -D-маннозида по методике [12].

Синтез защищенных гликозилфосфосахаров (XIV)—(XVI) (см. схему 1) выполняли путем конденсации водородфосфоната (XIII) и соединений (IV)—(VI) с последующим окислением образующихся Н-фосфонодиэфиров без их выделения из реакционной смеси. Реакцию конденсации осуществляли в пиридине в присутствии триметилацетилхлорида. В качестве окислителя использовали раствор иода в водном пиридине в присутствии триэтиламина. Контроль за протеканием взаимодействия соединений (XIII) и (VI) и последующим окислением проводили методом спектроскопии ^{31}P -ЯМР. Через 5 мин после добавления 2,5 экв. конденсирующего реагента к раствору эквимольных количеств исходных веществ сигнал Н-фосфоната (XIII) (δ 0,28) полностью исчезал. В спектре смеси присутствовали основные сигналы диастереомерных фосфонодиэфиров (XVII) (δ 8,03 и 8,21, соотношение 2,3 : 1, $^1J_{\text{P, H}} \sim 730$ Гц), а также ряд минорных сигналов (δ 5,26; 5,63; 8,85; 10,58). Последние имели характерную КССВ $^1J_{\text{H, P}} \sim 730$ Гц и, по-видимому, также принадлежали производным водородфосфоновой кислоты. Отношение их общей интенсивности к сумме основных сигналов составило $\sim 1 : 5$. Добавление окислителя приводило к образованию главного продукта реакции — диэфира фосфорной кислоты (XVI) (δ —1,98). Спектр смеси содержал также минорные сигналы δ 1,02 (фосфомоноэфир), —7,78 (симметричный пирофосфат) и —9,85, —10,14 (2д, несимметричный пирофосфат), отношение суммарной интенсивности которых к основному сигналу равнялось 1 : 3,4. Проведенный эксперимент показал, что гликозилфосфитилирование вторичного спирта (VI) и окисление протекают достаточно быстро, однако при этом образуется большее количество побочных продуктов, чем при аналогичном гликозилфосфитилировании первичноспиртового производного — метил-2,3,4-три-О-ацетил- α -D-маннопиранозида [1].

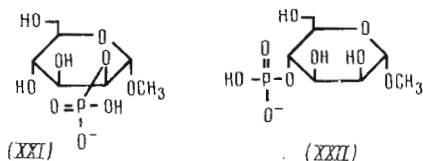
Препаративная конденсация соединений (XIII) и (VI) с последующим окислением и выделением продукта колоночной хроматографией на SiO_2 привела к защищенному (1—4)-связанному фосфонодиэфиру (XVI) с выхо-

Схема 1



дом 70%. Аналогично из Н-фосфоната (XIII) и спиртовых компонентов (IV) и (V) были получены (1-2)- и (1-3)-связанные производные (XIV) и (XV), выходы которых составили 87 и 77% соответственно.

Для превращения фосфодиэфиров (XIV)–(XVI) в незащищенные гликозилфосфосахара (I)–(III) их последовательно дебензилировали гидрогенолизом над 10%-ным Pd/C и дезацилировали. Полнота расщепления бензиловых эфиров обеспечивалась при использовании в реакции гидрогенолиза натриевых солей фосфодиэфиров [1]. Дебензилирование частично деблокированных производных (XVIII)–(XX) проводили действием 0,1 М раствора MeONa в MeOH. При этом наблюдалась побочная реакция частичного расщепления гликозилфосфатной связи, приводящая к образованию углеводных фосфомоноэфиров наряду со свободными гликозилфосфосахарами (I)–(III) (см. табл. 1). Так, длительное (16 ч) омыление при 20° С (1-4)-связанного соединения (XX) приводило к образованию заметных количеств метилманнопиранозид-4-фосфата (XXII), который отделяли от фосфодиэфира (III) ионообменной хроматографией. (1-2)-Связанный фосфодиэфир (XVIII) в тех же условиях подвергался аналогичному расщеплению в ~10 раз быстрее с образованием 2-фосфата (XXI). Выделенные фосфомоноэфиры были охарактеризованы данными спектров 1H - и ^{31}P -ЯМР (см. «Экспериментальную часть»).



Условия и продукты дебензоилирования фосфодиэфиров (XXVIII)–(XX)

№	Исходный фосфодиэфир	Условия дебензоилирования	Продукты дебензоилирования, выход, % *	
			фосфодиэфир	фосфомоноэфир
1	(XXVIII)	0,1 М MeONa/MeOH, 20° С, 1,5 ч	(I), 25	(XXI), 53
2	»	0,1 М MeONa/MeOH, 1° С, 2,5 ч	(I), 58	(XXI), 15
3	(XIX)	0,1 М MeONa/MeOH, 1° С, 22 ч	(II), 77	**
4	(XX)	0,1 М MeONa/MeOH, 20° С, 16 ч	(III), 43	(XXII), 23
5	»	0,05 М MeONa/MeOH, 20° С, 1,5 ч	(III), 83	**

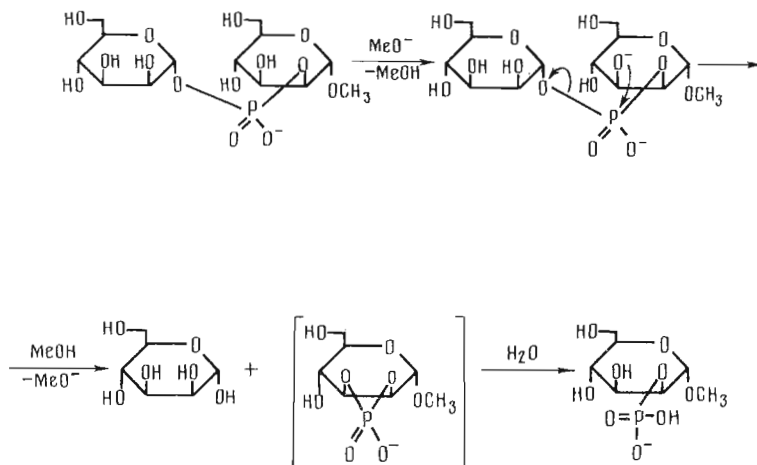
* Выход указан на две стадии (дебензилирование и дебензоилирование), считая на соединения (XIV)–(XVI).

** При ТСХ-анализе наблюдалось незначительное образование фосфомоноэфира; выход не оценивался.

Поиск более мягких условий дебензоилирования показал, что понижение температуры, уменьшение времени обработки и концентрации MeONa являются факторами, практически устраняющими или существенно замедляющими реакцию расщепления гликозилфосфатной связи. Найденные оптимальные условия омыления позволили получить с высокими выходами фосфодиэфиры (I)–(III), которые были выделены анионообменной хроматографией в градиенте бикарбоната триэтиламмония.

Одной из возможных причин нестабильности гликозилфосфосахаров при действии основания может быть образование (2,3)-, (3,4)- или (4,6)-циклофосфатов метил- α -D-маннопиранозида с одновременным элиминированием гликозидного фрагмента, протекающее по схеме 2. По-видимому, для такого процесса наиболее благоприятно экваториальное положение вицинального гидроксила по отношению к аксиальному O-гликозилфосфатному заместителю. Именно такая ситуация реализуется в случае (1–2)-связанного фосфодиэфира (I), получение которого сопровождается расщеплением гликозилфосфатной связи в наибольшей степени.

Схема 2



Анализ строения полученных защищенных фосфодиэфиров (XIV)–(XVI) и продуктов их деблокирования, гликозилфосфосахаров (I)–(III), был проведен путем сравнительного изучения данных спектроскопии ЯМР. Сигналы в спектрах ^{31}P -ЯМР лежали в области, характерной для положений резонанса диэфиров фосфорной кислоты данной природы [1–3, 5, 6]. Наличие фосфодиэфирных связей между атомами C1' и C2, C1' и C3 и C1' и C4 в гликозилфосфосахарах (I)–(III) подтверждалось в спектрах ^{13}C -ЯМР положениями резонанса этих атомов, а также соседних атомов

Химические сдвиги ^{31}P - и ^{13}C -ЯМР и некоторые КССВ (Гц) гликозилфосфосахаров (XIV)–(XVI) и (I)–(III)

Атом	(XIV) *	(XV) *	(XVI) *	(I) **	(II) **	(III) **
P	–2,51	–2,88	–2,85	–1,92	–1,85	–1,41
C1	99,7	98,6	98,5	100,6	102,0	101,8
C2	72,3д (4,7)	72,0	70,6	75,9д (6,0)	70,6	71,1
C3	71,1д (6,7)	71,0д (4,6)	71,5	71,1д (6,5)	77,7д (5,8)	71,1
C4	67,9	68,7д (5,8)	69,4д (4,9)	67,7	67,2д (6,2)	72,7д (5,5)
C5	68,6	68,9	70,3д (4,9)	74,0	73,9	73,6д (7,4)
C6	64,2	63,5	63,9	62,1	62,3	62,0
C1'	94,3д (4,7)	94,4д (4,0)	94,6д (4,9)	97,6д (5,4)	97,6д (6,0)	97,6д (5,5)
C2'	75,6д (7,0)	75,9д (5,9)	75,4д (7,3)	71,7д (8,1)	71,9д (9,2)	71,6д (7,4)
C3'	79,9	79,8	79,8	71,2	71,3	71,2
C4'	74,6	74,7	74,7	67,9	67,9	67,7
C5'	72,9	72,7	72,8	75,1	75,2	75,0
C6'	69,9	69,7	69,8	62,1	62,3	62,0
OCH ₃	55,2	55,4	55,2	56,2	56,2	56,0
OCH ₂ Ph	2	72,5	72,5	–	–	–
	3	71,7	71,6	–	–	–
	4	74,8	74,8	–	–	–
	6	73,3	73,3	–	–	–

* В CDCl₃. Присутствовали также сигналы Et₃NH⁺ (45,2–45,7 и 8,3–8,7), C₆H₅-групп (127,2–130,5, 132,7–133,3 и 138,7–139,2) и СО-групп (163,7–166,5). ** В D₂O. Присутствовали также сигналы Et₃NH⁺ (47,9–48,1 и 9,4–9,6).

(C2', C3 для (I), C4 для (II), C5 для (III)), измененными по сравнению с сигналами *D*-маннозы вследствие α - и β -эффектов фосфорилирования, и дублетной формой их сигналов, связанной с дополнительным расщеплением на атоме фосфора (см. табл. 2). Аналогичное расщепление сигналов H1', H2, H3 и H4 и их сдвиг в слабое поле (α -эффект фосфорилирования) наблюдались в спектрах ^1H -ЯМР соединений (I), (II) и (III) соответственно (см. табл. 3). α -Конфигурация гликозилфосфатных связей в этих фосфодиэфирах следовала из положений резонанса C3' и C5', характерных для α -*D*-маннопиранозилфосфата [13]. Таким же образом, но с учетом влияния бензильных и бензойных защитных групп была спектрально подтверждена структура защищенных производных (XIV)–(XVI) (см. табл. 2 и 3).

Структура углеводных фосфомоноэфиров (XXI) и (XXII) подтверждалась их подвижностью при электрофорезе (для (XXII)) и значениями химических сдвигов фосфора в спектрах ^{31}P -ЯМР, различающимися в зависимости от моно- или дианионной формы фосфата. Положение фосфатного заместителя однозначно следовало из слабополюсного положения резонанса и мультиплетности сигнала соответствующего протона в спектрах ^1H -ЯМР (см. «Экспериментальную часть»).

Таким образом, в ходе проведенного исследования продемонстрировано, что высокая эффективность водородфосфонатного метода сохраняется при синтезе гликозилфосфосахаров с различными типами фосфодиэфирной связи. Это открывает возможность синтеза фрагментов природных поли(гликозилфосфатов) — полимеров капсулы бактерий.

Экспериментальная часть

Оптическое вращение измеряли на поляриметре Jasco DIP-360. Спектры ^1H -, $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ - и $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ -ЯМР сняты на приборах Bruker WM-250 (250 МГц по ^1H) и Bruker AM-300 (75 МГц по ^{13}C , 121,5 МГц по ^{31}P). Хи-

Химические сдвиги ¹H-ЯМР и КССВ (Гц) первого порядка гликозидов сахароз (XIV) — (XVI) и (I) — (III)

Атом	(XIV)*	(XV)*	(XVI)*	(I)**	(II)**	(III)**
H1	5,24 д $J_{1,2}$ 1,7	4,92 д $J_{1,2}$ 1,8	4,89 д $J_{1,2}$ 1,7	4,89 д $J_{1,2}$ 1,6	4,74 д $J_{1,2}$ 1,7	4,79 д $J_{1,2}$ 1,7
H2	4,83 ддд $J_{2,3}$ 2,2; $J_{2,4}$ 8,4	5,76 дд $J_{2,3}$ 3,1	5,61 дд $J_{2,3}$ 3,5	4,31 ддд $J_{2,3}$ 8,0	4,40 дд $J_{2,3}$ 3,2	3,98 дд $J_{2,3}$ 3,3
H3	5,69 ддд $J_{3,4}$ 2,3	5,13 ддд $J_{3,4}$ 8,5	5,71 дд $J_{3,4}$ 9,8	3,80 дд $J_{3,4}$ 3,1	4,25 ддд $J_{3,4}$ 8,0	3,94 дд $J_{3,4}$ 9,0
H4	5,83 т $J_{4,5}$ 10,0	5,89 т $J_{4,5}$ 10,0	5,40 к $J_{4,5}$ 9,8	3,65 т $J_{4,5}$ 9,5	3,76 т $J_{4,5}$ 9,2	4,22 к $J_{4,5}$ 9,0
H5	4,33 ддд $J_{5,6a}$ 3,5; $J_{5,6b}$ 5,8	4,22 ддд $J_{5,6a}$ 4,8	4,17 ддд $J_{5,6a}$ 5,6	3,57 ддд $J_{5,6a}$ 5,0	3,63 ддд $J_{5,6a}$ 4,9	3,72 ддд $J_{5,6a}$ 5,6; $J_{5,6b}$ 2,2
H6a	4,44—4,56 м	4,42 дд $J_{6a,6b}$ 12,0	4,67 дд $J_{6a,6b}$ 12,0	3,73 дд $J_{6a,6b}$ 11,0	3,82 дд $J_{6a,6b}$ 12,0	3,76—3,94 м
H6b		4,38 дд $J_{5,6b}$ 2,5	4,98 дд $J_{5,6b}$ 2,0	3,86 дд $J_{5,6b}$ 2,2	3,87 дд $J_{5,6b}$ 2,1	

Таблица 3 (продолжение)

Атом	(XIV) *	(XV) *	(XVI) *	(I) **	(II) **	(III) **
H1'	5,77 дд $J_{1,2} 1,9; J_{1P} 7,6$	5,65 дд $J_{1,2} 1,5; J_{1P} 7,4$	5,64 дд $J_{1,2} 1,5; J_{1P} 7,4$	5,43 дд $J_{1,2} 1,5$	5,45 дд $J_{1,2} 1,5$	5,51 дд $J_{1,2} 1,5$
H2'	4,02 дд $J_{2,3} 2,5$	3,98 т $J_{1,2} = J_{2,3} = 1,7$		3,98 дд $J_{1,2} 2,0$	3,97 дд $J_{1,2} 1,9$	4,04 дд $J_{1,2} 2,0$
H3'				3,85 дд $J_{2,3} 3,3$	3,87 дд $J_{2,3} 3,1$	3,92 дд $J_{2,3} 3,2$
H4'	3,88—4,0 м	3,95—4,07 м	3,86—3,98 м	3,65 т $J_{3,4} = J_{4,5} = 9,5$	3,66 т $J_{3,4} = J_{4,5} = 9,5$	3,73 т $J_{3,4} = J_{4,5} = 9,5$
H5'						
H6a'	3,63 дд; $J_{5,6a} 1,5$ $J_{6a,6b} 11,0$	3,67 д $J_{6a,6b} 11,0$	3,62 дд; $J_{5,6a} 1,1$ $J_{6a,6b} 11,0$			
H6b'	3,72 дд $J_{5,6b} 3,9$	3,78 дд $J_{5,6b} 2,4$	3,71 дд $J_{5,6b} 3,2$	3,69—3,82 м	3,66—3,84 м	3,76—3,94 м
OCH ₃	3,45 с	3,42 с	3,45 с	3,38 с	3,38 с	3,43 с
OCH ₂ Ph	4,41 д; 4,56 д $J_{12,0}$	4,44 д; 4,62 д $J_{12,0}$	4,41 д; 4,56 д $J_{12,0}$			
	4,43 д; 4,49 д $J_{11,8}$	4,55 д; 4,64 д $J_{12,0}$	4,42 д; 4,49 д $J_{12,1}$			
	4,50 д; 4,87 д $J_{11,0}$	4,56 д; 4,92 д $J_{11,0}$	4,49 д; 4,84 д $J_{11,1}$			
	4,71 с (2H)	4,58 с (2H)	4,57 д; 4,63 д $J_{12,5}$			

* В CDCl₃. Присутствовали также сигналы Et₃NH⁺ (1,00—1,11 т; 2,66—2,78 в) и C₂H₅-группы (7,1—7,6 м и 7,9—8,2 м).
 ** В D₂O. Для H-ЯМР-спектроскопии использованы Na⁺-соли фосфонидфуров (I) — (III).

мические сдвиги выражены в шкале δ , КССВ — в герцах. Растворы упаривали в вакууме при температуре не выше 40° С. Аналитическую ТСХ выполняли на пластинках с закрепленным слоем SiO₂ Kieselgel 60F₂₅₄ (Merck), обнаруживая вещества по УФ-поглощению или 25% H₂SO₄ при нагревании. Обнаружение фосфорсодержащих соединений описано в работе [14]. Системы для ТСХ: бензол — ацетон, 95 : 5 (А), хлороформ — метанол, 95 : 5 (Б), дихлорметан — метанол, 95 : 5 (В), 3 : 1 (Г), изопропиловый спирт — вода, 5 : 1 (Д). Колоночную хроматографию (КХ) проводили на SiO₂ L 40/100 (Chemapol). Соединения (I)–(III), (XXI) и (XXII) выделяли ионообменной хроматографией на колонке (18 × 1 см) с фрактогелем TSK DEAE-650 (S) (HCO₃⁻) в линейном градиенте бикарбоната триэтиламмония (ТЕАВ) от 0 до 0,5 М (скорость элюирования 1 мл/мин). Электрофорез выполняли на бумаге Filtrak FN-16 в 0,05 М ТЕАВ, обнаруживая фосфаты реагентом [15]. Пиридин готовили как описано в работе [1].

Метил-2-О-ацетил-3-О-бензоил- α -D-маннопиранозид (IX). Раствор 1,33 г соединения (VII) [9] в 10 мл пиридина обрабатывали 5 мл Ac₂O (16 ч, 20° С), упаривали, от остатка отгоняли толуол (3 × 10 мл). Полученный сироп (VIIa) [спектр ¹H-ЯМР (CDCl₃): 2,17 (с, 3H, CH₃CO), 3,46 (с, 3H, CH₃O), 3,91 (т, 1H, H6a, J_{5,6a} = J_{6a,6b} = 10,0), 4,04 (ддд, 1H, H5, J_{4,5} 9,2), 4,23 (дд, 1H, H4, J_{3,4} 10,3), 4,35 (дд, 1H, H6b, J_{5,6b} 4,3), 4,75 (д, 1H, H1, J_{1,2} 1,7), 5,49 (дд, 1H, H2, J_{2,3} 3,6), 5,64 (с, 1H, CHPh), 5,68 (дд, 1H, H3), 7,25–7,6 и 7,95–8,05 (м, 10H, C₆H₅)] растворяли в 30 мл 70% AcOH и выдерживали 3 ч при 70° С. Раствор упаривали, от остатка отгоняли толуол (3 × 10 мл). Методом КХ в хлороформе с метанолом (0 → 5% MeOH) выделили 1,01 г соединения (IX) (90%, аморфный), [α]_D²⁸ +46,8° (с 1, хлороформ), R_f 0,26 (Б). Спектр ¹H-ЯМР (CDCl₃): 2,16 (с, 3H, CH₃CO), 3,43 (с, 3H, CH₃O), 3,79 (дт, 1H, H5, J_{5,6a} = J_{5,6b} = 3,9), 3,92 (дд, 1H, H6a, J_{6a,6b} 12,0), 3,97 (дд, 1H, H6b), 4,16 (т, 1H, H4, J_{3,4} = J_{4,5} = 9,7), 4,75 (д, 1H, H1, J_{1,2} 1,9), 5,37 (дд, 1H, H2, J_{2,3} 3,5), 5,44 (дд, 1H, H3), 7,40–7,65 и 7,95–8,05 (м, 5H, C₆H₅). Найдено, %: С 56,44, Н 5,90. С₁₆H₂₀O₈. Вычислено, %: С 56,46, Н 5,92.

Метил-2-О-ацетил-3,4,6-три-О-бензоил- α -D-маннопиранозид (XI). Раствор 1 г соединения (IX) в 10 мл пиридина обрабатывали 0,76 мл бензоилхлорида (16 ч, 20° С) и упаривали. Полученный сироп растворяли в хлороформе (150 мл), промывали насыщенным раствором NaHCO₃ (2 × 50 мл), водой (2 × 50 мл), высушивали и упаривали. Методом КХ в бензоле с ацетоном (0 → 10% ацетона) выделили 1,38 г соединения (XI) (78%, аморфный), [α]_D²⁸ +9,1° (с 1, хлороформ), R_f 0,50 (А). Спектр ¹H-ЯМР (CDCl₃): 2,15 (с, 3H, CH₃CO), 3,51 (с, 3H, CH₃O), 4,37 (ддд, 1H, H5, J_{5,6a} 5,3), 4,50 (дд, 1H, H6a, J_{6a,6b} 12,0), 4,63 (дд, 1H, H6b, J_{5,6b} 3,0), 4,86 (д, 1H, H1, J_{1,2} 1,8), 5,47 (дд, 1H, H2, J_{2,3} 3,2), 5,79 (д, 1H, H3), 5,91 (т, 1H, H4, J_{3,4} = J_{4,5} = 10,1), 7,30–8,20 (м, 15H, C₆H₅). Найдено, %: С 66,12, Н 4,86. С₃₀H₂₈O₁₀. Вычислено, %: С 65,69, Н 5,14.

Метил-3,4,6-три-О-бензоил- α -D-маннопиранозид (IV). Раствор HCl в метаноле, полученный прибавлением 1,2 мл AcCl по каплям к 30 мл MeOH при 0° С, приливали к 1,3 г соединения (XI). Выдерживали 16 ч при 20° С, упаривали, от остатка отгоняли толуол (3 × 5 мл). Методом КХ в бензоле с ацетоном (0 → 10% ацетона) выделили 0,89 г соединения (IV) (75%, аморфный), [α]_D²⁷ +21° (с 1, хлороформ), R_f 0,30 (А). Спектр ¹H-ЯМР (CDCl₃): 2,30 (ус, 1H, OH), 3,53 (с, 3H, CH₃O), 4,33 (дд, 1H, H2, J_{2,3} 3,2), 4,35 (ддд, 1H, H5, J_{5,6a} 5,4), 4,50 (дд, 1H, H6a, J_{6a,6b} 12,0), 4,61 (дд, 1H, H6b, J_{5,6b} 3,0), 4,90 (д, 1H, H1, J_{1,2} 1,7), 5,68 (дд, 1H, H3), 5,94 (т, 1H, H4, J_{3,4} = J_{4,5} = 10,0), 7,30–7,60 и 7,90–8,10 (м, 15H, C₆H₅). Спектр ¹³C-ЯМР (CDCl₃): 55,4 (CH₃O), 63,7 (C6), 67,2 (C4), 68,75 (C5), 69,5 (C2), 72,7 (C3), 100,9 (C1), 128,5–133,4 (C₆H₅), 165,4, 165,7 (CO). Данные [16]: [α]_D²³ +32° (с 0,5, хлороформ).

Метил-3-О-ацетил-2-бензоил- α -D-маннопиранозид (X) получали из 1,6 г соединения (VIII) [10] последовательным ацетилированием [спектр ¹H-ЯМР интермедиата (VIIIa) (CDCl₃): 2,00 (с, 3H, CH₃CO), 3,47 (с, 3H, CH₃O), 3,92 (т, 1H, H6a, J_{5,6a} = J_{5,6b} = 10,0), 4,04 (дт, 1H, H5,

$J_{4,5}$ 10,0), 4,17 (дд, 1H, H4, $J_{3,4}$ 11,0), 4,36 (дд, 1H, H6b, $J_{5,6b}$ 4,0), 4,84 (д, 1H, H1, $J_{1,2}$ 1,6), 5,51 (дд, 1H, H3, $J_{2,3}$ 3,4), 5,61 (дд, 1H, H2), 5,64 (с, 1H, СНPh), 7,30—7,70 и 8,08—8,16 (м, 10H, C₆H₅)] и кислотным гидролизом по методике, описанной для синтеза диола (IX). Выделили 1,08 г соединения (X) (79%, аморфный), $[\alpha]_D^{30}$ —64,7° (с 0,2, хлороформ), R_f 0,26 (B). Спектр ¹H-ЯМР (CDCl₃): 2,05 (с, 3H, СН₃CO), 2,17 (т, 1H, 6-OH, $J_{6,OH}$ 6,4), 2,57 (д, 1H, 4-OH, $J_{4,OH}$ 5,0), 3,45 (с, 3H, СН₃O), 3,78 (дт, 1H, H5, $J_{5,6}$ 3,6), 3,95 (дд, 2H, H6a, H6b), 4,19 (дт, 1H, H4, $J_{3,4} = J_{4,5} = 10,0$), 4,83 (д, 1H, H1, $J_{1,2}$ 1,8), 5,30 (дд, 1H, H3, $J_{2,3}$ 3,4), 5,48 (дд, 1H, H2), 7,40—7,65 и 8,02—8,10 (м, 5H, C₆H₅).

Метил-2,4,6-три-О-бензоил-α-D-маннопиранозид (V). 1,08 г диола (X) бензоилировали по обычной методике (см. синтез (XI)), с образованием соединения (XII) (аморфный), $[\alpha]_D^{29}$ —9,5° (с 1,76, хлороформ), R_f 0,52 (A). Спектр ¹H-ЯМР (CDCl₃): 1,90 (с, 3H, СН₃CO), 3,52 (с, 3H, СН₃O), 4,34 (ддд, 1H, H5, $J_{5,6a}$ 4,5), 4,45 (дд, 1H, H6a, $J_{6a,6b}$ 12,2), 4,70 (дд, 1H, H6b, $J_{5,6b}$ 2,6), 4,94 (д, 1H, H1, $J_{1,2}$ 1,9), 5,58 (дд, 1H, H2, $J_{2,3}$ 3,5), 5,72 (дд, 1H, H3), 5,92 (т, 1H, H4, $J_{3,4} = J_{4,5} = 10,0$), 7,35—7,70 и 7,95—8,27 (м, 15H, C₆H₅). Найдено, %: С 65,95, Н 5,30. С₃₀Н₂₈О₁₀. Вычислено, %: С 65,69, Н 5,14.

Полученное соединение (XII) дезацетировали в условиях, описанных для синтеза (IV) (раствор HCl/MeOH готовили из 3 мл AcCl и 75 мл MeOH). Выделили 1,43 г соединения (V) (80%, аморфный), $[\alpha]_D^{29}$ +4,9° (с 0,96, хлороформ), R_f 0,3 (A). Спектр ¹H-ЯМР (CDCl₃): 3,50 (с, 3H, СН₃O), 4,31 (ддд, 1H, H5, $J_{5,6a}$ 4,7), 4,42 (дд, 1H, H3, $J_{2,3}$ 3,4), 4,48 (дд, 1H, H6a, $J_{6a,6b}$ 12,0), 4,70 (дд, 1H, H6b, $J_{5,6b}$ 2,5), 4,97 (д, 1H, H1, $J_{1,2}$ 1,8), 5,44 (дд, 1H, H2), 5,71 (т, 1H, H4, $J_{3,4} = J_{4,5} = 10,0$), 7,35—7,67 и 8,02—8,12 (м, 15H, C₆H₅). Спектр ¹³C-ЯМР (CDCl₃): 55,6 (СН₃O), 63,2 (С6), 68,5 (С5), 69,1 (С3), 70,5 (С4), 72,9 (С2), 98,6 (С1), 128,5—133,6 (С₆H₅), 165,8, 166,0, 166,8 (СО). Найдено, %: С 66,36, Н 4,95. С₂₈Н₂₆О₉. Вычислено, %: С 66,39, Н 5,17.

Метил-2,3,6-три-О-бензоил-α-D-маннопиранозид (VI) получали по методике [12]. Спектр ¹H-ЯМР (CDCl₃): 3,07 (ус, 1H, OH), 3,50 (с, 3H, СН₃O), 4,11 (ддд, 1H, H5, $J_{5,6a}$ 2,1), 4,29 (т, 1H, H4, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9,7$), 4,66 (дд, 1H, H6a, $J_{6a,6b}$ 12,2), 4,91 (дд, 1H, H6b, $J_{5,6b}$ 3,9), 4,94 (д, 1H, H1, $J_{1,2}$ 1,5), 5,62 (дд, 1H, H2), 5,64 (дд, 1H, H3, $J_{2,3}$ 3,2), 7,27—7,67 и 7,90—8,20 (м, 15H, C₆H₅). Спектр ¹³C-ЯМР (CDCl₃): 55,4 (СН₃O), 63,5 (С6), 66,45 (С4), 70,6 (С2), 71,3 (С5), 72,8 (С3), 98,8 (С1), 128,4—133,4 (С₆H₅), 165,8, 167,1, 167,2 (СО).

Общая процедура синтеза защищенных фосфодиэфиров (XIV)–(XVI). Смесь 112 мг (0,16 ммоль) H-фосфоната (XIII) и 76 мг (0,15 ммоль) спиртового компонента ((IV), (V) или (VI)) высушивали отгонкой с пиридином (3 × 1,5 мл). К раствору остатка в 0,75 мл пиридина при перемешивании прибавляли 0,046 мл (0,375 ммоль) триметилацетилхлорида; через 10 мин при 20° С прибавляли 0,1 мл (0,75 ммоль) Et₃N и раствор 81,5 мг (0,32 ммоль) иода в 1,5 мл смеси Ру—Н₂O (98 : 2). ТСХ-контроль проводили в системах А и В. Через 15 мин смесь выливали на лед, разбавляли хлороформом (50 мл), промывали 1 М Na₂S₂O₃ (2 × 25 мл), 1 М ТЕАВ (2 × 25 мл), высушивали и упаривали. Из остатка методом КХ в дихлорметане с метанолом (1,6 → 16% MeOH) выделяли фосфодиэфиры (XIV)–(XVI).

Метил-2-О-(2,3,4,6-тетра-О-бензил-α-D-маннопиранозилфосфо)-3,4,6-три-О-бензоил-α-D-маннопиранозид (XIV) и метил-3-О-(2,3,4,6-тетра-О-бензил-α-D-маннопиранозилфосфо)-2,4,6-три-О-бензоил-α-D-маннопиранозид (XV) получали согласно общей процедуре синтеза защищенных фосфодиэфиров из моногидроксильных производных (IV) и (V) соответственно. Выход (XIV) 160 мг (87%, аморфный), $[\alpha]_D^{20}$ —5,8° (с 1, хлороформ), R_f 0,45 (B). Выход (XV) 139 мг (77%, аморфный), $[\alpha]_D^{21}$ —3° (с 1, хлороформ), R_f 0,45 (B). Спектры ¹³C- и ³¹P-ЯМР — см. табл. 2, спектры ¹H-ЯМР — см. табл. 3.

Метил-4-О-(2,3,4,6-тетра-О-бензил-α-D-маннопиранозилфосфо)-2,3,6-три-О-бензоил-α-D-маннопиранозид (XVI). Конденсацию соединений

(XIII) (80 мг, 0,11 ммоль) и (VI) (50 мг, 0,10 ммоль) в присутствии 0,037 мл (0,30 ммоль) триметилацетилхлорида и последующее окисление проводили согласно общей методике синтеза защищенных фосфодиэфиров. Методом КХ выделили 84 мг соединения (XVI) (70%, аморфный), $[\alpha]_D^{29} - 11,3^\circ$ (с 1, хлороформ), R_f 0,45 (В). Спектры ^{13}C - и ^{31}P -ЯМР — см. табл. 2, спектр ^1H -ЯМР — см. табл. 3.

Общая процедура деблокирования фосфодиэфиров (XIV)–(XVI). Раствор фосфодиэфира ((XIV), (XV) или (XVI)) в смеси MeOH — диоксан (2 : 1) обрабатывали катионитом Dowex 50W \times 4 (Na^+) 2 ч при 20° С. Катионит отфильтровывали, фильтрат упаривали, остаток гидрировали над 10% Pd/C в метаноле с тетрагидрофураном (2 : 1) 5–10 ч при 20° С до образования одного продукта по ТСХ (R_f 0,15 (Г)). Катализатор отфильтровывали, фильтрат упаривали. Полученный дебензилированный продукт ((XVIII), (XIX) или (XX)) обрабатывали раствором MeONa в MeOH (условия приведены в табл. 1), контролируя дебензоилирование по ТСХ в системе Д. Раствор нейтрализовали катионитом КУ-2 (H^+), фильтровали, фильтрат немедленно нейтрализовали триэтиламиноом и упаривали. Из остатка методом ионообменной хроматографии выделяли образующиеся фосфодиэфиры (I)–(III) и фосфомоноэфиры (XXI), (XXII).

Метил-2-О- α -D-маннопиранозилфосфо- α -D-маннопиранозид, триэтиламмониевая соль (I) и метил- α -D-маннопиранозид-2-фосфат, моно(триэтиламмониевая) соль (XXI). а) Фосфодиэфир (XIV) (40 мг) дебензилировали и дебензоилировали согласно общей процедуре деблокирования. Условия омыления — см. опыт 1 в табл. 1. Выделили 6 мг соединения (I) (25%, аморфный), $[\alpha]_D^{27} + 35,5^\circ$ (с 1, вода), R_f 0,3 (Д) (спектры ^{13}C - и ^{31}P -ЯМР — см. табл. 2, спектр ^1H -ЯМР — см. табл. 3) и 9 мг соединения (XXI) (53%, аморфный), $[\alpha]_D^{27} + 23,4^\circ$ (с 0,7, метанол), R_f 0,15 (Д); спектр ^1H -ЯМР (D_2O): 1,25 (т, 9H, CH_3CH_2), 3,12 (к, 6H, CH_3CH_2), 3,40 (с, 3H, CH_2O), 3,62 (ддд, 1H, H5, $J_{5,6a}$ 5,0), 3,70 (т, 1H, H4, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9,0$), 3,77 (дд, 1H, H6a, $J_{6a,6b}$ 12,0), 3,82 (дд, 1H, H3), 3,89 (дд, 1H, H6b, $J_{5,6b}$ 2,1), 4,33 (ддд, 1H, H2, $J_{2,3}$ 3,1, $J_{2,p}$ 8,6), 4,94 (д, 1H, H1, $J_{1,2}$ 1,7); спектры ^{31}P -ЯМР (D_2O): 0,88 (pD 6, моноанион); 4,87 (pD 9, дианион). б) Деблокировали 160 мг фосфодиэфира (XIV). Условия омыления — см. опыт 2 в табл. 1. Выделили 40 мг (58%) соединения (I) и 7,5 мг (15%) соединения (XXI).

Метил-3-О- α -D-маннопиранозилфосфо- α -D-маннопиранозид, триэтиламмониевая соль (II). 70 мг фосфодиэфира (XV) деблокировали согласно общей процедуре. Условия омыления — см. опыт 3 в табл. 1. Выделили 23 мг соединения (II) (77%, аморфный), $[\alpha]_D^{27} + 52^\circ$ (с 1,15, вода), R_f 0,3 (Д). Спектры ^{13}C - и ^{31}P -ЯМР — см. табл. 2, спектр ^1H -ЯМР — см. табл. 3.

Метил-4-О- α -D-маннопиранозилфосфо- α -D-маннопиранозид, триэтиламмониевая соль (III) и метил- α -D-маннопиранозид-4-фосфат, моно(триэтиламмониевая) соль (XXII). а) 150 мг фосфодиэфира (XVI) деблокировали по общей методике. Условия омыления — см. опыт 4 в табл. 1. Выделили 29 мг соединения (III) (43%, аморфный), $[\alpha]_D^{30} + 72,1^\circ$ (с 0,96, MeOH), R_f 0,3 (Д), $E_{\text{интрат}}$ 0,82, $E_{\text{ГЛСР}}$ 0,53 (спектры ^{13}C - и ^{31}P -ЯМР — см. табл. 2, спектры ^1H -ЯМР — см. табл. 3) и 11 мг соединения (XXII) (23%, аморфный), $[\alpha]_D^{30} + 75,2^\circ$ (с 1,1, метанол), R_f 0,15 (Д), $E_{\text{интрат}}$ 1,54, $E_{\text{ГЛСР}}$ 1; спектр ^1H -ЯМР (D_2O): 1,29 (т, 9H, CH_3CH_2), 3,21 (к, 6H, CH_3CH_2), 3,42 (с, 3H, CH_2O), 3,70 (ддд, 1H, H5, $J_{5,6a}$ 5,2), 3,80 (дд, 1H, H6a, $J_{6a,6b}$ 12,5), 3,90 (дд, 1H, H6b, $J_{5,6b}$ 1,6), 3,93 (дд, 1H, H3, $J_{2,3}$ 3,6), 3,98 (дд, 1H, H2), 4,15 (к, 1H, $J_{3,4} = J_{4,5} = J_{4,p} = 9,0$), 4,78 (д, 1H, H1, $J_{1,2}$ 1,4); спектры ^{31}P -ЯМР (D_2O): 1,29 (pD 6, моноанион); 5,82 (pD 9, дианион). Данные [8]: для соединения (III) $[\alpha]_D^{20} + 75,7^\circ$ (циклогексиламмониевая соль), для (XXII) $[\alpha]_D^{20} + 75,5^\circ$ (циклогексиламмониевая соль). б) Деблокировали 70 мг фосфодиэфира (XVI). Условия омыления — см. опыт 5 в табл. 1. Выделили 25 мг (83%) соединения (III).

Авторы благодарят А. С. Пашкова за съемку и помощь в интерпретации спектров ^1H - и ^{13}C -ЯМР и А. В. Игнатенко — за съемку спектров ^{31}P -ЯМР.

1. Николаев А. В., Рябцева Е. В., Шибает В. И., Кочетков Н. К. // Биоорган. химия. 1989. Т. 15. № 12. С. 1649—1659.
2. Елисева Г. И., Николаев А. В., Шибает В. И., Кочетков Н. К. // Биоорган. химия. 1989. Т. 15. № 8. С. 1140—1143.
3. Nikolaev A. V., Utkina N. S., Shibaev V. N., Ignatenko A. V., Kochetkov N. K. // Carbohydr. Res. 1989. V. 187. P. c1—c5.
4. Шибает В. И., Джорунбекова Дж., Елисева Г. И., Кочетков Н. К. // Биоорган. химия. 1986. Т. 12. № 9. С. 1225—1233.
5. Шибает В. И., Елисева Г. И., Джорунбекова Дж., Кочетков Н. К. // Биоорган. химия. 1987. Т. 13. № 7. С. 940—946.
6. Thiem J., Franzkowiak M. // J. Carbohydr. Chem. 1989. V. 8. № 1. P. 1—28.
7. Николаев А. В., Иванова И. А., Шибает В. И., Кочетков Н. К. // Биоорган. химия. 1989. Т. 15. № 6. С. 847—849.
8. Cawley T. N., Letters R. // Carbohydr. Res. 1971. V. 19. № 3. P. 373—382.
9. Seymour E. R. // Carbohydr. Res. 1974. V. 34. № 1. P. 65—70.
10. Abbas S. A., Haines A. H. // Carbohydr. Res. 1975. V. 39. № 2. P. 358—363.
11. Byratova N. E., Ovchinnikov M. V., Backinowsky L. V., Kochetkov N. K. // Carbohydr. Res. 1983. V. 124. № 1. P. c8—c11.
12. Williams I. M., Richardson A. C. // Tetrahedron. 1967. V. 23. P. 1369—1378.
13. O'Conner J. V., Nunez H. A., Barker R. // Biochemistry. 1979. V. 18. P. 500—507.
14. Vaskovsky V. E., Kostetsky E. Y., Vasendin J. M. // J. Chrom. 1975. V. 114. P. 129—141.
15. Hanes C. S., Isherwood F. A. // Nature. 1949. V. 164. P. 1107—1109.
16. Ishido Y., Sakairi N., Sekiya M., Nakazaki N. // Carbohydr. Res. 1981. V. 97. № 1. P. 51—79.

Поступила в редакцию
3.VIII.1989

A. V. NIKOLAEV, I. A. IVANOVA, V. N. SHIBAEV, N. K. KOCHETKOV

FRAGMENTS OF BIOPOLYMERS CONTAINING GLYCOSYL PHOSPHATE
RESIDUES. 4. SYNTHESIS OF (1-2)-, (1-3)- AND
(1-4)-LINKED GLYCOSYL PHOSPHOSUGARS
BY THE HYDROGENPHOSFONATE METHOD

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

Hydrogenphosphonate approach previously used for the 6-O-(glycosylphospho)-sugar synthesis is found to be efficient for the synthesis of (1-2)-, (1-3)-, and (1-4)-linked mannosyl phosphomannoses which may serve as models for various fragments of natural poly(glycosyl phosphates). Glycosylphosphitylation of suitable monohydroxyl derivatives with 2,3,4,6-tetra-O-benzyl- α -D-mannopyranosyl H-phosphonate in pyridine in the presence of Me_3CCOCl , followed by oxidation of the H-phosphonate diesters obtained (I_2 in $\text{Py}-\text{H}_2\text{O}$), resulted in fully protected phosphate diesters in 70—87% yields. Deprotection of these derivatives by standard procedures lead to deblocked glycosyl phosphosugars. The data of ^1H , ^{13}C , and ^{31}P NMR spectra of the synthesized phosphate diesters are discussed.