



УДК 547.455.6'118.057

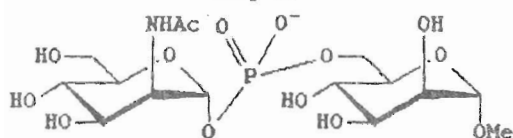
© 1993 г. Н. С. Уткина, Г. И. Елисеева, А. В. Николаев,  
В. Н. ШибаетФРАГМЕНТЫ БИОПОЛИМЕРОВ, СОДЕРЖАЩИХ ОСТАТКИ  
ГЛИКОЗИЛФОСФАТОВ12.\* СИНТЕЗ ГЛИКОЗИЛФОСФОСАХАРОВ, СОДЕРЖАЩИХ ОСТАТКИ  
2-АЦЕТАМИДО-2-ДЕЗОКСИ- $\alpha$ -D-МАННОПИРАНОЗИЛФОСФАТА,  
В ТОМ ЧИСЛЕ ФРАГМЕНТА КАПСУЛЬНОГО АНТИГЕНА *Neisseria meningitidis* A

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

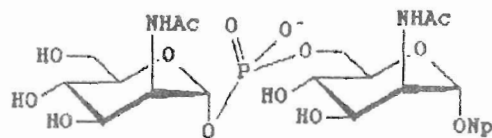
Осуществлено получение 2-ацетидамо-3,4,6-три-О-бензоил-2-дезоксид- $\alpha$ -D-маннопиранозид-Н-фосфоната и первые синтезы на его основе гликозилфосфосахаров, содержащих остатки N-ацетилманнозамина — фосфодиэфиров ManNAc( $\alpha$ )-P-6Man( $\alpha$ )Me, аналога фрагмента лизосомных гликопротеинов, и ManNAc( $\alpha$ )-P-6ManNAc( $\alpha$ )Np, производного фрагмента капсульного антигена микроорганизма *Neisseria meningitidis*.

В опубликованных ранее работах настоящей серии мы показали, что гликозилфосфосахара — фрагменты биополимеров из бактерий, дрожжей и высших организмов — могут быть эффективно получены в результате взаимодействия соответствующих гликозилводородфосфонатов с защищенными производными моносахаридов. В рамках проведенных исследований этот подход был успешно использован для синтеза фосфодиэфиров, построенных из остатков D-маннозы [2, 3], D-глюкозы [4], D-галактозы [5] и N-ацетил-D-глюкозамина [4, 6]. В настоящей работе мы сообщаем о распространении метода на синтез гликозилфосфосахаров (I) и (II), содержащих 2-ацетидамо-2-дезоксид- $\alpha$ -D-маннопиранозидфосфатные звенья.

Соединение (I) можно рассматривать как аналог полученного ранее [4] фрагмента лизосомных гликопротеинов, в котором остаток N-ацетилглюкозамина заменен на остаток N-ацетилманнозамина, а фосфодиэфир (II) является гликозидом димерного фрагмента капсульного полимера *Neisseria meningitidis* серогруппы A, построенного из повторяющихся звеньев N-ацетил- $\alpha$ -D-маннозаминилфосфата, связанных 1—6-связью [7, 8]. Упомянутый микроорганизм относится к числу наиболее распространенных возбудителей менингита, и исследования по получению фрагментов его антигенного полимера и их использованию для получения диагностических препаратов и синтетических вакцин представляют значительный интерес.

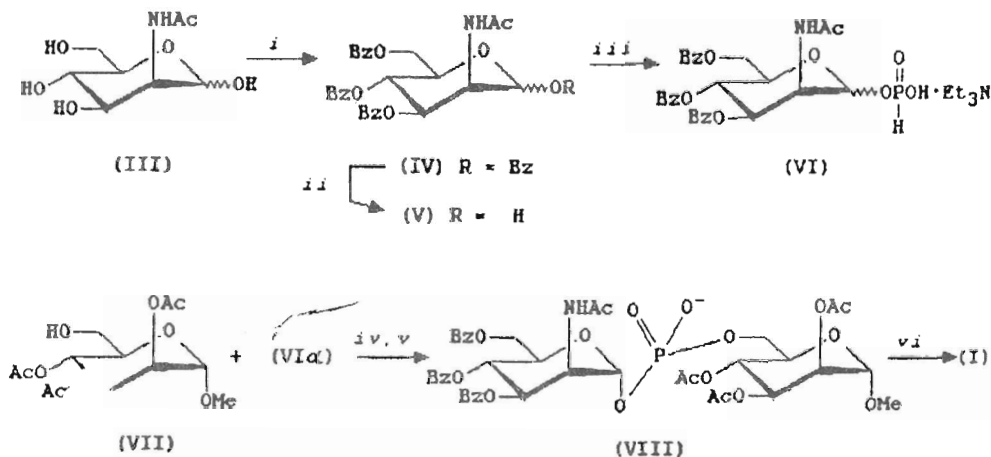


(I)



(II)

\* Сообщение 11 — см. [1]. Адрес А. В. Николаева в настоящее время — Институт пищевых веществ РАН, Москва.



*i*)  $\text{BzCl/Py}$ ; *ii*)  $\text{Me}_2\text{NH/MeCN}$ ; *iii*)  $\text{PCl}_3, \text{ImH/MeCN}$ ;  $\text{Et}_3\text{NH}\cdot\text{HCO}_3$   
*iv*)  $\text{Me}_3\text{CCOCl/Py}$ ; *v*)  $\text{I}_2/\text{Py-H}_2\text{O}$ ; *vi*)  $\text{MeONa/MeOH}$

Ключевым соединением для синтеза фосфодиэфиров (I) и (II) служил защищенный водородфосфонат (VI), для получения которого, в свою очередь, было необходимо исходить из  $\alpha$ -аномера трибензоата (Va) (см. схему 1).

Бензоилирование N-ацетилманномина (III) 5 экв. бензоилхлорида в пиридине приводило к смеси тетрабензоатов (IV $\alpha$ ) и (IV $\beta$ ), которые могут быть разделены хроматографией на силикагеле, причем  $\beta$ -аномер удается получить в кристаллическом состоянии. Селективное 1-О-дебензоилирование как смеси (IV $\alpha$ ) и (IV $\beta$ ), так и чистого  $\beta$ -аномера при действии диметиламина в ацетонитриле или *трет*-бутиламина в смеси ацетонитрил — метанол давало смесь трибензоатов (V) со значительным преобладанием  $\alpha$ -аномера (по данным спектроскопии  $^1\text{H}$ -ЯМР, соотношение  $\alpha$ - и  $\beta$ -аномеров составило 5 : 1).

Обработка этой смеси триимидазолидофосфитом с последующим гидролизом имидазолидных групп в описанных ранее условиях [1—6] привело с выходом, близким к количественному, к смеси аномеров водородфосфонатов (VI $\alpha\beta$ ), причем соотношение  $\alpha$ - и  $\beta$ -аномеров сохранилось равным 5 : 1. Для увеличения содержания в смеси желаемого  $\alpha$ -аномера фосфоната была использована разработанная нами ранее на примере синтеза производного D-галактозы процедура аномеризации или предпочтительного расщепления  $\beta$ -аномера при обработке смеси гликозилводородфосфонатов фосфористой кислотой [5]. В данном случае наилучших результатов удалось добиться при реакции с 5 экв.  $\text{H}_3\text{PO}_3$  в ацетонитриле в течение 20 ч при комнатной температуре. Практически чистый  $\alpha$ -аномер (VI $\alpha$ ) (примесь  $\beta$ -аномера менее 8%) был выделен с выходом 50% после очистки хроматографией на силикагеле. Увеличение продолжительности обработки приводит к снижению выхода фосфоната за счет его расщепления.

Строение и аномерная конфигурация производных (IV) — (VI) надежно подтверждались данными  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектров (табл. 1). Наиболее характерны для определения аномерной конфигурации химические сдвиги сигналов H3 и H4: в спектрах  $\alpha$ -аномеров сигналы H3 смещены в сторону слабого поля по сравнению с H4, а в спектрах  $\beta$ -аномеров наблюдается смещение в противоположную сторону. Для пары аномеров (IV) дополнительное подтверждение аномерной конфигурации было получено на основании данных оптического вращения и спектров  $^{13}\text{C}$ -ЯМР (см. «Экспериментальную часть»), в которых наблюдаются характерные различия в химических сдвигах сигналов C3 и C5 (ср. спектры  $^{13}\text{C}$ -ЯМР N-ацетилманномина, описанные в работе [9]).

Данные спектров <sup>1</sup>H-ЯМР производных N-ацетилманнозамина

Атом	(IVα)	(Vα)	(VIα)*	(IVβ)	(Vβ)	(VIβ)* <sup>2</sup>
Химические сдвиги (δ, CDCl <sub>3</sub> )						
H1	6,53д	5,31д	5,71дд	6,36д	5,22д	5,65дд
H2	5,27ддд	4,88ддд	4,94ддд	5,23ддд	4,97ддд	Не опр.
H3	*3	5,90дд	5,88дд	5,65дд	5,55дд	5,50дд
H4	*3	5,77т	5,73т	5,78т	5,73т	Не опр.
H5	*4	*4	4,72ддд	4,36ддд	*4	»
H6a	*4	*4	4,48дд	4,55дд	*4	»
H6b	*4	*4	4,59дд	4,67дд	*4	»
HN	8,75д	6,30д	6,77 д	6,16д	6,30д	6,43д
CH <sub>3</sub> CO	2,01с	1,98с	1,98с	2,11с	2,04с	2,01с
C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	7,0—7,6м 7,9—8,1м	7,3—7,6м 7,9—8,1м	7,3—7,6м 7,8—8,0м	7,3—7,6м 7,9—8,1м	7,3—7,6м 7,8—8,1м	7,3—7,6м 7,8—8,1м
КССВ (Гц) первого порядка						
J <sub>1,2</sub>	2,0	1,5	1,5	1,6	1,3	< 2,0
J <sub>1,p</sub>	—	—	8,5	—	—	9,0
J <sub>2,3</sub>	3,5	4,2	4,0	4,0	4,2	3,9
J <sub>2,NN</sub>	9,0	9,0	9,0	9,0	7,0	Не опр.
J <sub>3,4</sub>	Не опр.	9,5	10,0	8,5	9,5	9,0
J <sub>4,5</sub>	»	9,5	10,0	8,5	9,5	Не опр.
J <sub>5,6a</sub>	»	Не опр.	5,1	5,5	Не опр.	»
J <sub>5,6b</sub>	»	»	3,0	3,5	»	»
J <sub>6a,6b</sub>	»	»	12,3	12,0	»	»

\* Присутствует также сигнал НР (δ 7,10д, J<sub>Н,Р</sub> 632 Гц).

\*<sup>2</sup> Присутствует также сигнал НР (δ 7,13д, J<sub>Н,Р</sub> 640 Гц).

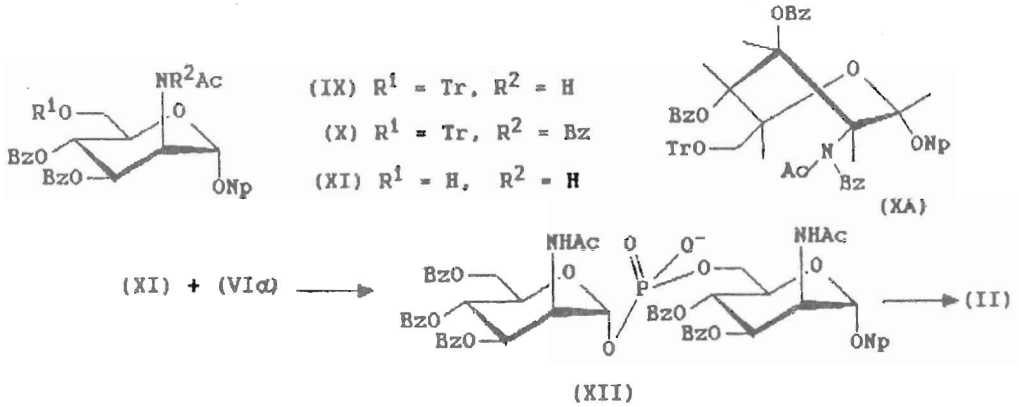
\*<sup>3</sup> В составе мультиплета в области 5,9—6,1 м.д.

\*<sup>4</sup> В составе мультиплета в области 4,4—4,7 м.д.

При получении фосфодиэфира (I) спиртовым компонентом служил гликозид (VII) [10]. Его реакцию с Н-фосфонатом (VIα) и триметилацетилхлоридом в пиридине и последующее окисление продуктов проводили как описано ранее [5]. Защищенный фосфодиэфир (VIII), выделенный после хроматографии на силикагеле с выходом 90%, дезацелировали действием 0,1 М MeONa в метаноле, и целевой гликозилфосфосахар (I) был получен с выходом 77% после очистки ионообменной хроматографией на фрактогеле TSK DEAE-650 (S) (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>). Строение фосфодиэфиров (I) и (VIII) однозначно вытекает из детального анализа их спектров ЯМР (табл. 2 и 3). Хотя в исходном гликозил-Н-фосфонате (VIα) и присутствовали следы β-аномера (см. выше), в продуктах (VIII) и (I) примеси соответствующего изомерного фосфодиэфира не удалось обнаружить даже при тщательном исследовании.

В случае синтеза фосфодиэфира (II) (см. схему 2) необходимый спиртовой компонент (XI) был получен из *n*-нитрофенил-2-ацетамидо-2-дезоксид-*α*-D-маннопиранозиды [11]. После его тригилирования и бензоилирования были выделены ди-О-бензоат (IX) и образующийся в качестве побочного продукта N,О,О-трибензоат (X). Детригилирование соединения (IX) действием перхлората пиридиния [10] привело к производному (XI).

Следует отметить характерные отличия в спектрах <sup>1</sup>H-ЯМР (см. «Экспери-



ментальную часть») N-бензоата (X) от соединений (IX) и (XI). Спектры дибензоата (IX), а также продукта его детритилирования (XI) полностью соответствуют ожидаемым для производных 2-ацетида-2-дезоксид- $\alpha$ -D-маннопиранозидов при  $^4\text{C}_1$ -конформации гексопиранозного цикла. В то же время при переходе к соединению (X) определенно происходит значительное конформационное изменение, в результате которого величины КССВ  $J_{1,2}, J_{3,4}$  и  $J_{4,5}$  принимают значения, характерные для *gosh*-расположения этих атомов водорода, что соответствует скошенной конформации гексопиранозного цикла  $^0S_2$  (см. формулу XA). Подобное изменение спектра  $^1\text{H}$ -ЯМР, связанное с конформационным изменением, отмечено для 1,3,4,6-тетра-О-ацетил-2-(N-ацетилбензамидо)-2-дезоксид- $\alpha$ -D-маннопиранозы [12].

Конденсацию фосфоната (VIα) и спирта (XI) в присутствии триметилацетилхлорида и последующее окисление продуктов проводили в условиях, описанных выше для синтеза соединения (VIII). Выход фосфодиэфира (XII) составил 82%. Дебензоилирование защищенного производного оказалось необходимым проводить в более мягких условиях, чем указано выше (0,05 M MeONa в метаноле, 0° C). Целевой гликозилфосфосахар (II) был получен с выходом 70% после очистки ионообменной хроматографией на фрактогеле TSK DEAE-650 (S) ( $\text{HCO}_3^-$ ).

Вывод о структуре синтезированных гликозилфосфосахаров (I) и (II), а также их защищенных производных (VIII) и (XII) однозначно вытекает из анализа их спектров ЯМР (табл. 2 и 3). Сигналы в спектрах  $^{31}\text{P}$ -ЯМР лежали в области, характерной для фосфодиэфиров такого типа (ср. [1–6]). В спектрах  $^{13}\text{C}$ -ЯМР соединений (I) и (II) наблюдается смещение сигналов  $\text{C}1', \text{C}2', \text{C}5$  и  $\text{C}6$  по сравнению с незамещенными моносахаридами, соответствующее ожидаемому на основании данных об  $\alpha$ - и  $\beta$ -эффектах фосфорилирования, и расщепление или уширение этих сигналов за счет спин-спинового взаимодействия с атомом фосфора, что указывает на образование (1–6)-фосфодиэфирной связи. Аналогичное расщепление сигналов  $\text{H}1', \text{H}6\text{a}$  и  $\text{H}6\text{b}$  наблюдается и в спектрах  $^1\text{H}$ -ЯМР соединений (VIII) и (XII). Аномальная конфигурация при  $\text{C}1'$  следует из химических сдвигов сигналов  $\text{C}3', \text{C}5'$ , а также  $\text{H}3'$  в соответствующих спектрах.

Таким образом, результаты проведенного исследования показывают, что водород-фосфонатный метод может быть успешно использован для синтеза гликозилфосфосахаров, содержащих остатки 2-ацетида-2-дезоксид- $\alpha$ -D-маннопиранозилфосфата, которые были обнаружены в составе некоторых важных углевод-фосфатных биополимеров.

### Экспериментальная часть

Физико-химические и хроматографические методы описаны в работах [5, 13]. Системы для ТСХ: бензол — этилацетат, 1 : 1 (А), 10 : 1 (Б), 10 : 3 (В); хлороформ — метанол, 4 : 1 (Г), 10 : 3 (Д); изопропиловый спирт — вода, 5 : 1 (Е), 6 : 1 (Ж).

2-Ацетида-1,3,4,6-тетра-О-бензоил-2-дезоксид- $\alpha, \beta$ -D-маннопираноза (IV).

Данные спектров <sup>1</sup>H-ЯМР для гликозилфосфосахаров (VIII) и (XII) (в CDCl<sub>3</sub>)

(VIII)				(XII)			
Химические сдвиги (δ, м.д.)							
H1	4,66д	H1'	5,60дд	H1	5,67д	H1'	5,63дд
H2	5,21дд	H2'	4,94ддд	H2	5,12ддд	H2'	5,08м
H3	5,32дд	H3'	5,86дд	H3	6,10уш.д	H3'	5,95дд
H4	5,24г	H4'	5,79г	H4	5,92м	H4'	5,83дд
H5	3,99ддд	H5'	4,72дг	H5	*	H5'	4,73дг
H6a	4,06ддд	H6a'	4,41дд	H6a	*	H6a'	4,38дд
H6b	4,15дг	H6b'	4,66дд	H6b	*	H6b'	4,66дд
КССВ первого порядка (Гц)							
J <sub>1,2</sub>	1,5	J <sub>1',2'</sub>	1,7	J <sub>1,2</sub>	1,1	J <sub>1',2'</sub>	1,5
J <sub>2,3</sub>	3,2	J <sub>2',3'</sub>	3,6	J <sub>2,3</sub>	4,5	J <sub>2',3'</sub>	4,0
J <sub>3,4</sub>	10,0	J <sub>3',4'</sub>	9,5	J <sub>3,4</sub>	10,0	J <sub>3',4'</sub>	10,0
J <sub>4,5</sub>	10,0	J <sub>4',5'</sub>	9,5	J <sub>4,5</sub>	Не опр.	J <sub>4',5'</sub>	10,0
J <sub>5,6a</sub>	2,7	J <sub>5',6a'</sub>	3,2	J <sub>5,6a</sub>	*	J <sub>5',6a'</sub>	Не опр.
J <sub>5,6b</sub>	6,5	J <sub>5',6b'</sub>	3,2	J <sub>5,6b</sub>	*	J <sub>5',6b'</sub>	3,3
J <sub>6a, 6b</sub>	11,5	J <sub>6a', 6b'</sub>	12,0	J <sub>6a, 6b</sub>	*	J <sub>6a', 6b'</sub>	12,0
J <sub>6a, P</sub>	6,0	J <sub>1', P</sub>	7,7	J <sub>6a, P</sub>	*	J <sub>1', P</sub>	8,0
J <sub>6b, P</sub>	6,5	—	—	J <sub>6b, P</sub>	*	—	—
—	—	J <sub>2', NH</sub>	9,3	J <sub>2', NH</sub>	0,0	J <sub>2', NH</sub>	Не опр.

\* Сигналы входят в состав плохо разрешенного мультиплета в области 4,15—4,25 м. д.

В соединении (XII) сигналы N-ацетильных групп находятся при 1,88 и 1,93 м.д., в спектре соединения (VIII) имеются сигналы N-ацетильной группы (1,94 м.д.), трех O-ацетильных групп (1,98, 2,05 и 2,10 м.д.), а также O-метильной группы при 3,36 м.д. В спектрах обоих соединений присутствуют также сигналы ароматических протонов (7,2—7,6 и 7,8—8,2 м.д.) и катиона триэтил-аммония (триплет при 1,25 или 1,33 м.д. и квартет при 2,87 или 3,05 м.д.).

Таблица 3

Данные спектров <sup>31</sup>P- и <sup>13</sup>C-ЯМР для гликозилфосфосахаров (I) и (II) (в D<sub>2</sub>O)

(I)		(II)	
Химические сдвиги (δ, м.д.)			
C1 102,3	C1' 96,55д	C1 98,3	C1' 96,5д
C2 71,9	C2' 54,5д	C2 53,6	C2' 54,5д
C3 71,3	C3' 70,1	C3 70,0	C3' 70,0
C4 67,7	C4' 67,7	C4 67,4	C4' 67,6
C5 72,7д	C5' 74,8	C5 73,6д	C5' 74,7
C6 66,1д	C6' 61,6	C6 65,6д	C6' 61,6
P -0,68*	—	P -1,54	—
КССВ, J <sub>C,P</sub> (Гц)			
J <sub>C5,P</sub> 8,3	J <sub>C1',P</sub> 5,5	J <sub>C5,P</sub> 8,6	J <sub>C1',P</sub> 4,9
J <sub>C6,P</sub> 4,9	J <sub>C2',P</sub> 8,9	J <sub>C6,P</sub> 5,7	J <sub>C2',P</sub> 8,6

\* В метаноле.

В спектре соединения (I) присутствуют дополнительные сигналы N-ацетильной (23,3 и 176,1 м.д.) и метоксильной (56,15 м.д.) групп, в спектре соединения (II) — N-ацетильных групп (23,2 и 176,1 м.д.) и остатка *o*-нитрофенола (118,1, 127,4, 142,8 и 160,9 м.д.).

Раствор 500 мг (2,32 ммоль) N-ацетилманнозамина (III) в 5 мл абс. пиридина охлаждали до 0° С, прибавляли 1,36 мл (5 экв.) бензонилхлорида, перемешивали и оставляли на ночь при комнатной температуре. Растворитель упаривали, остаток растворяли в хлороформе, промывали насыщенным раствором бикарбоната

натрия (1×5 мл) и водой (3×10 мл), растворитель упаривали. Методом КХ на SiO<sub>2</sub> в градиенте этилацетата в бензоле (0 → 50%) выделяли 580 мг соединения (IVα) (40%, аморфный),  $[\alpha]_D^{30} + 16,6^\circ$  (с 0,9, хлороформ),  $R_f$  0,83 (А). Спектр <sup>13</sup>С-ЯМР (CDCl<sub>3</sub>): 23,1 (CH<sub>3</sub>CO), 50,0 (C2), 63,0 (C6), 67,0 (C4), 69,9 (C3), 70,7 (C5), 92,7 (C1, <sup>1</sup>J<sub>C,H</sub> 179), 128,4—130,1, 133,2—133,4 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 164,0, 170,5 (CO). Получено также 600 мг (42%) соединения (IVβ), т. пл. 123—125° С (толуол—эфир),  $[\alpha]_D^{26} - 24^\circ$  (с 1, хлороформ),  $R_f$  0,9 (А). Спектр <sup>13</sup>С-ЯМР (CDCl<sub>3</sub>): 23,2 (CH<sub>3</sub>CO), 49,7 (C2), 63,1 (C6), 67,0 (C4), 71,6 (C3), 73,4 (C5), 91,5 (C1, <sup>1</sup>J<sub>C,H</sub> 168,5), 128,4—130,2, 133,2—133,9 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 164,2, 165,6, 170,8 (CO). <sup>1</sup>Н-ЯМР-спектры соединений (IVα) и (IVβ) см. табл. 1.

2-Ацетамидо-3,4,6-три-О-бензоил-2-дезоксид-α-β-D-маннопираноза (V). Раствор 200 г (0,31 ммоль) соединения (IVβ) в 4 мл ацетонитрила охлаждали до 0° С и добавляли 0,146 мл (7 экв.) диметиламина (свежеперегнаный), выдерживали 6 ч при комнатной температуре и ночь при 3° С. Раствор упаривали, от остатка отгоняли ацетонитрил. После КХ на SiO<sub>2</sub> в градиенте этилацетата в бензоле (0 → 50%) получали 90 мг соединения (V) (54%, аморфный, α : β = 5 : 1),  $R_f$  0,36 (А). Соотношение аномеров определяли из <sup>1</sup>Н-ЯМР-спектра (см. табл. 1).

2-Ацетамидо-3,4,6-три-О-бензоил-2-дезоксид-α-D-маннопиранозилводородфосфонат, триэтиламмониевая соль (VIα). К раствору 107 мг (1,57 ммоль) имидазола в 2,5 мл CH<sub>3</sub>CN при перемешивании и охлаждении ледяной водой прибавляли 0,042 мл (0,47 ммоль) PCl<sub>3</sub> и 0,23 мл (1,66 ммоль) Et<sub>3</sub>N, через 15 мин прибавляли по каплям раствор 59 мг (0,11 ммоль) соединения (V) (α : β = 5 : 1) в 2,5 мл ацетонитрила в течение 30 мин. Охлаждение прекращали, к смеси через 5 мин прибавляли 0,75 мл 1 М ТЕАВ (рН 8) при 20° С. Раствор перемешивали 15 мин, упаривали, от полученного сиропа отгоняли смесь пиридин — триэтиламин (4 : 1). Остаток растворяли в хлороформе (70 мл), раствор промывали ледяной водой (2×30 мл), охлажденным 0,5 М ТЕАВ (2×10 мл), высушивали и упаривали. Полученный хроматографически однородный продукт растворяли в бензоле, раствор лиофилизировали в вакууме (0,5—1 мм рт.ст.). Выход α,β-водородфосфоната (VI) 77 мг (100%, α : β = 5 : 1),  $R_f$  0,25 (Г). Соотношение аномеров определяли из спектра <sup>1</sup>Н-ЯМР (см. табл. 1).

К раствору 115 мг (0,165 ммоль) фосфоната (VI) в 6 мл CH<sub>3</sub>CN прибавляли 68 мг (0,825 ммоль) H<sub>3</sub>PO<sub>3</sub> (Fluka). Раствор выдерживали 20 ч при 20° С, разбавляли хлороформом (30 мл), промывали раствором NaHCO<sub>3</sub> (2×10 мл), 0,5 М ТЕАВ (2×10 мл), высушивали и упаривали. Из остатка методом КХ на SiO<sub>2</sub> в CHCl<sub>3</sub> с метанолом (0 → 30% MeOH) выделяли 58 мг (50%) α-фосфоната (VIα) с небольшой примесью β-аномера (VIβ) (α : β = 11 : 1),  $[\alpha]_D^{26} + 8,04^\circ$  (с 5, хлороформ),  $R_f$  0,25 (Г). Спектр <sup>1</sup>Н-ЯМР — см. табл. 1.

Метил-6-(2-ацетамидо-3,4,6-три-О-бензоил-2-дезоксид-α-D-маннопиранозилфосфо)-2,3,4-три-О-ацетил-α-D-маннопиранозид, триэтиламмониевая соль (VIII). Раствор 38 мг (0,054 ммоль) водородфосфоната (VIα) и 16 мг (0,05 ммоль) соединения (VII) в 2 мл бензола лиофильно высушивали, процедуру повторяли. Остаток растворяли в 0,5 мл пиридина, при перемешивании прибавляли 0,017 мл (0,135 ммоль) триметилацетилхлорида и через 10 мин при 20° С раствор 25 мг (0,1 ммоль) иода в 0,5 мл смеси пиридин — вода (95 : 5). Через 10 мин смесь разбавляли хлороформом (20 мл), промывали 1 М Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (2×5 мл), 0,5 М ТЕАВ (2×5 мл), высушивали и упаривали. Методом КХ на SiO<sub>2</sub> в хлороформе с метанолом (0 → 20% MeOH) выделяли 46 мг (90%) фосфодиэфира (VIII) (аморфный),  $R_f$  0,54 (Д),  $[\alpha]_D^{26} + 28^\circ$  (с 0,3, хлороформ). Спектр <sup>31</sup>P-ЯМР (CDCl<sub>3</sub>): -2,91. <sup>1</sup>Н-ЯМР-спектр — см. табл. 2.

Метил-6-(2-ацетамидо-2-дезоксид-α-D-маннопиранозилфосфо)-α-D-маннопиранозид, аммониевая соль (I). К раствору 60 мг (59 мкмоль) соединения (VIII) в 2 мл 1,4-диоксана прибавляли 2 мл 0,2 М раствора MeONa в метаноле. Через 1 ч при 20° С реакционную смесь обрабатывали катионитом Dowex 50 (H<sup>+</sup>),

фильтровали, раствор нейтрализовали триэтиламиноом (2 мл), упаривали, от остатка отгоняли MeOH. Фосфодиэфир (I) выделяли ионообменной хроматографией на колонке (1×18 см) с фрактогелем TSK DEAE-650(S) (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) (Merck) в линейном градиенте бикарбоната аммония в воде (0 → 0,25 М, скорость элюции 1 мл/мин). Выделили 26 мг (77%) соединения (I) (аморфный), [α]<sub>D</sub><sup>26</sup> + 38,9° (с 2,6, метанол), R<sub>f</sub> 0,32 (E). Спектры <sup>31</sup>P-ЯМР и <sup>13</sup>C-ЯМР—см. табл. 3.

*n*-Нитрофенил-2-ацетамидо-3,4-ди-*O*-бензоил-2-дезоксид-6-*O*-тримил- $\alpha$ -*D*-маннопиранозид (IX). Раствор 180 мг (0,5 ммоль) *n*-нитрофенил-2-ацетамидо-2-дезоксид- $\alpha$ -*D*-маннопиранозид [11] и 220 мг (0,8 ммоль) трифенилхлорметана в 2 мл пиридина выдерживали 3 сут при 20° С. При охлаждении прибавляли 0,174 мл (1,5 ммоль) бензоилхлорида. Через 48 ч при 20° С смесь выливали на лед, экстрагировали СНCl<sub>3</sub>, промывали экстракт насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub>, водой, высушивали и упаривали. После КХ на SiO<sub>2</sub> в градиенте этилацетата в бензоле (0 → 30%) выделяли 200 мг соединения (IX) (48%), [α]<sub>D</sub><sup>27</sup> + 55,6° (с 0,5, хлороформ), R<sub>f</sub> 0,33 (B). Спектр <sup>1</sup>H-ЯМР (CDCl<sub>3</sub>): 2,1 (с, 3H, CH<sub>3</sub>CO), 3,3 (м, 2H, H6a, H6b), 4,11 (ддд, 1H, H5, J<sub>5,6a</sub> 3,0, J<sub>5,6b</sub> 4,8), 5,07 (ддд, 1H, H2, J<sub>2,3</sub> 4,5, J<sub>2, NH</sub> 8,5), 5,63 (т, 1H, H4, J<sub>3,4</sub> = J<sub>4,5</sub> = 10), 5,76 (д, 1H, H1, J<sub>1,2</sub> 1,5), 5,88 (дд, 1H, H3), 6,21 (д, 1H, NH), 7,1—8,3 (м, 29H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>). При хроматографии выделено также 163 мг (34%) *N*-бензоильного производного (X), [α]<sub>D</sub><sup>27</sup> + 20,1° (с 0,5, хлороформ), R<sub>f</sub> 0,9 (B). Спектр <sup>1</sup>H-ЯМР (CDCl<sub>3</sub>): 1,85 (с, 3H, CH<sub>3</sub>CO), 3,42 (дд, 1H, H6a, J<sub>5,6a</sub> 3,5, J<sub>6a,6b</sub> 11), 3,59 (дд, 1H, H6b, J<sub>5,6b</sub> 8), 4,38 (ддд, 1H, H5), 5,49 (дд, 1H, H4, J<sub>4,5</sub> 6,0), 5,67 (дд, 1H, H2, J<sub>2,3</sub> 4,0), 5,78 (т, 1H, H3, J<sub>3,4</sub> 4,0), 6,47 (д, 1H, H1, J<sub>1,2</sub> 6,5), 7,1—8,1 (м, 34H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>).

*n*-Нитрофенил-2-ацетамидо-3,4-ди-*O*-бензоил-2-дезоксид- $\alpha$ -*D*-маннопиранозид (XI) получен обработкой 200 мг (0,25 ммоль) соединения (IX) перхлоратом пиридина (189 мг) в 8 мл нитрометана и 2,7 мл метанола в течение 2 ч при 50° С. К смеси добавляли пиридин (0,05 мл) и упаривали. После экстракции продуктов хлороформом и КХ на SiO<sub>2</sub> в градиенте этилацетата в бензоле (0 → 100%) выделяли 62 мг (45%) маннозида (XI), [α]<sub>D</sub><sup>26</sup> + 90,8° (с 0,5, хлороформ), R<sub>f</sub> 0,1 (B). Спектр <sup>1</sup>H-ЯМР (CDCl<sub>3</sub>): 2,06 (с, 3H, CH<sub>3</sub>CO), 3,16 (дт, 1H, OH), 3,75 (м, 2H, H6a, H6b), 4,00 (дт, 1H, H5, J<sub>5,6a</sub> = J<sub>5,6b</sub> = 2,2), 5,09 (ддд, 1H, H2, J<sub>2,3</sub> 4,7, J<sub>2, NH</sub> 8,5), 5,76 (т, 1H, H4, J<sub>4,5</sub> 10), 5,78 (д, 1H, H1, J<sub>1,2</sub> 1,5), 6,11 (дд, 1H, H3, J<sub>3,4</sub> 10), 6,76 (д, 1H, NH), 7,2—8,3 (м, 14H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>).

*n*-Нитрофенил-2-ацетамидо-6-(2-ацетамидо-3,4,6-три-*O*-бензоил-2-дезоксид- $\alpha$ -*D*-маннопиранозилфосфо)-3,4-ди-*O*-бензоил-2-дезоксид- $\alpha$ -*D*-маннопиранозид, триэтиламмониевая соль (XII) получен из смеси 50 мг (0,07 ммоль) фосфоната (VIa) и 35 мг (0,064 ммоль) производного (X) по методике синтеза фосфодиэфира (VIII). Выход соединения (XII) 65 мг (82%, аморфный), [α]<sub>D</sub><sup>29</sup> + 36,4° (с 6,5, хлороформ), R<sub>f</sub> 0,6 (Г). Спектр <sup>31</sup>P-ЯМР (CDCl<sub>3</sub>): -3,86. <sup>1</sup>H-ЯМР-спектр — в табл. 2. Спектр <sup>13</sup>C-ЯМР (CDCl<sub>3</sub>): 9,4 (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>), 22,65 (CH<sub>3</sub>CO), 23,0 (CH<sub>3</sub>CO), 45,75 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 50,05 (C2), 51,1 (C2', J<sub>C2',P</sub> 7,1), 62,95 (C6'), 64,4 (C6, J<sub>C6, P</sub> 6), 66,1 (C4'), 66,7 (C4), 69,05 (C3'), 70,2 (C3 + C5'), 71,0 (C5, J<sub>C5, P</sub> 6,4), 95,0 (C1', J<sub>C1',P</sub> 4,7), 97,7 (C1), 116,7, 125,7, 142,7, 160,95 (C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 126,15—133,4 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 164,9—165,9 (COO), 169,7, 171,2 (CONH).

*n*-Нитрофенил-2-ацетамидо-6-(2-ацетамидо-2-дезоксид- $\alpha$ -*D*-маннопиранозилфосфо)-2-дезоксид- $\alpha$ -*D*-маннопиранозид, аммониевая соль (II). К 65 мг (52 мкмоль) соединения (XII) в 2 мл 1,4-диоксана прибавляли 2 мл 0,1 М MeONa в метаноле, выдерживали 2 ч при 0° С. Дальнейшую обработку осуществляли как описано в синтезе соединения (I). Контроль за разделением при ионообменной хроматографии проводили по УФ-поглощению при 280 нм. Выделяли 24 мг (70%) фосфодиэфира (II), аморфный, [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> + 41,3° (с 2,3, метанол), R<sub>f</sub> 0,1 (E), 0,3 (Ж). Спектры <sup>31</sup>P- и <sup>13</sup>C-ЯМР приведены в табл. 3.



## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Николаев А. В., Иванова И. А., Шибает В. Н.//Биоорган. химия. 1992. Т. 18. № 5. С. 689—698.
2. Николаев А. В., Рябцева Е. В., Шибает В. Н., Кочетков Н. К.//Биоорган. химия. 1989. Т. 15. № 12. С. 1649—1659.
3. Nikolaev A. V., Ivanova I. A., Shibaev V. N., Kochetkov N. K.//Carbohydr. Res. 1990. V. 204. № 1. P. 65—78.
4. Елисеева Г. И., Иванова И. А., Николаев А. В., Шибает В. Н.//Биоорган. химия. 1991. Т. 17. № 10. С. 1401—1411.
5. Уткина Н. С., Николаев А. В., Шибает В. Н.//Биоорган. химия. 1991. Т. 17. № 4. С. 531—539.
6. Николаев А. В., Иванова И. А., Шибает В. Н.//Биоорган. химия. 1992. Т. 18. № 1. С. 126—141.
7. Liu T.-Y., Gotschlich E. C., Jonssen E. K., Wysocki J. R.//J. Biol. Chem. 1971. V. 246. № 9. P. 2849—2858.
8. Bundle D. R., Smith I. P. C., Jennings J. E.//J. Biol. Chem. 1974. V. 249. № 7. P. 2275—2281.
9. Bundle D. R., Jennings H. J., Smith I. P. C.//Can. J. Chem. 1973. V. 51. № 22. P. 3812—3819.
10. Кочетков Н. К., Дмитриев Б. А., Байрамова Н. Э., Николаев А. В.//Изв. АН СССР. Сер. хим. 1978. № 3. С. 652—656.
11. Yoshimura J., Sakai H., Oda N., Hashimoto H.//Bull. Chem. Soc. Jap. 1972. V. 45. № 7. P. 2027—2032.
12. Inch T. D., Plimmer J. R., Fletcher H. G.//J. Org. Chem. 1966. V. 31. № 6. P. 1825—1830.
13. Николаев А. В., Иванова И. А., Шибает В. Н., Кочетков Н. К.//Биоорган. химия. 1990. Т. 16. № 8. С. 1105—1117.

Поступила в редакцию  
1.VII.1992

N. S. Utkina, G. I. Eliseyeva, A. V. Nikolaev, V. N. Shibaev

FRAGMENTS OF BIOPOLYMERS CONTAINING GLYCOSYL  
PHOSPHATE RESIDUES.

12. THE SYNTHESIS OF GLYCOSYL PHOSPHOSUGARS CONTAINING  
2-ACETAMIDO-2-DEOXY- $\alpha$ -D-MANNOPYRANOSYL PHOSPHATE RESIDUES  
INCLUDING A FRAGMENT OF THE CAPSULAR ANTIGEN  
FROM *Neisseria meningitidis* A

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

2-Acetamido-3,4,6-tri-O-benzoyl-2-deoxy- $\alpha$ -D-mannopyranosyl hydrogenphosphonate was synthesised and used for the first syntheses of glycosyl phosphosugars containing N-acetylmannosamine residue. The phosphodiester prepared include ManNAc( $\alpha$ )-P-6Man( $\alpha$ )Me, an analogue of the fragment of some lysosomal glycoproteins, and ManNAc( $\alpha$ )-P-6ManNAc( $\alpha$ )Np, a derivative of the fragment of the capsular antigen from *Neisseria meningitidis* A.