



УДК 543.422.25:547.458.057:577.114.012

СИНТЕЗ, ЯМР И КОНФОРМАЦИОННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ФРАГМЕНТОВ ФУКОИДАНОВ. VI. ФРАГМЕНТЫ, СОДЕРЖАЩИЕ α -(1 \rightarrow 2)-СВЯЗАННОЕ ФУКОБИОЗИДНОЕ ЗВЕНО

© 2004 г. А. Г. Гербст*, А. А. Грачев*, Н. Е. Устюжанина*,
Е. А. Хатунцева*, Д. Е. Цветков*, А. И. Усов*, А. С. Шашков*,
М. Е. Преображенская**, Н. А. Ушакова**, Н. Э. Нифантьев**

*Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН,
119991, Москва, ГСП-1, В-334, Ленинский просп., 47;

**ГУ НИИ биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича РАМН, Москва

Поступила в редакцию 22.05.2003 г. Принята к печати 10.09.2003 г.

Синтезирована серия избирательно сульфатированных производных ди- и трисахаридов, соответствующих потенциальным фрагментам фукоиданов и включающих (1 \rightarrow 2)- α -связанное фукобиозидное звено. Изучены особенности спектров ^1H - и ^{13}C -ЯМР этих соединений, а также проведен их конформационный анализ с привлечением экспериментов по ядерным эффектам Оверхаузера (ЯЭО) и молекулярного моделирования. В случае дисахаридов экспериментально наблюдаемые величины ЯЭО отличались от величин, найденных в результате моделирования с использованием молекулярно-механического силового поля ММ3, но соответствовали расчетам с использованием метода функционала плотности (ФП). Трисахаридные фрагменты, частично или полностью сульфатированные по положениям 4, корректно описывались как силовым полем ММ3, так и методом ФП.

Ключевые слова: фукоиданы, синтез фрагментов; конформационный анализ; ЯЭО; молекулярная механика; функционал плотности.

ВВЕДЕНИЕ

Строение, биосинтез и биологическая активность природных полисахаридов широко исследуются в связи с их важной ролью в разнообразных процессах жизнедеятельности клетки. Особый возрастающий интерес вызывают фукоиданы благодаря своей разнообразной физиологической активности (см. процитированные в [2, 3] работы): антикоагулянтной, противоопухолевой, противовоспалительной, антиангиогенной и антивирусной. Однако до сих пор имеются лишь фрагментарные сведения о строении фукоиданов, структурная характеристика которых осложнена их нерегулярностью, гетерогенностью, а также отсутствием методов их направленного и контролируемого расщепления.

Нами проводится систематический синтез известных и предполагаемых фрагментов фукоиданов, их спектроскопический (ЯМР) и конформационный анализ с целью выявления ключевых

структурных мотивов и фармакофорных группировок, определяющих биологические свойства фукоиданов. В качестве физиологической активности исследуются в первую очередь противовоспалительное (способность блокировать L- и P-селектины) и антиангиогенное действие, а также ингибирование микробной адгезии. Ранее нами были изучены линейный 4,4',4''-три-*O*-сульфатированный (1 \rightarrow 3)-связанный фукотриозид [1], его нессульфатированный аналог и составляющие дисахариды [2, 4], а также 2,3- и 3,4-разветвленные трисахариды [2].

В настоящем сообщении рассматриваются синтез, результаты ЯМР- и конформационного анализа серии *n*-пропилгликозидов ди- и трисахаридов, содержащих (1 \rightarrow 2)-связанный фукобиозидный фрагмент. Это нессульфатированный (I) [2], 4-*O*-сульфатированный (II) и 4,4'-ди-*O*-сульфатированный (III) фукобиозиды, а также нессульфатированный (IV) [2], 4-*O*-сульфатированный (V), 4,4'-ди-*O*-сульфатированный (VI) и 4,4',4''-три-*O*-сульфатированный (VII) 2,3-разветвленные трисахариды, построенные из остатков α -*L*-фукопиранозы.

Сообщение V см. [1].

Сокращения: All – аллил; Bn – бензил; Bz – бензоил; Me₃SiOTf – триметилсилилтрифлат; ФП – функционал плотности.

Автор для переписки (эл. почта: nen@ioc.ac.ru; тел.: (095) 135-87-84).

Таблица 1. Величины химических сдвигов (δ , м.д.) в спектрах ^1H -ЯМР* соединений (I)–(VII)

Соединение	Остаток	H1	H2	H3	H4	H5	H6
(I)	α -L-Fuc-OPr	5.10	3.85	3.96	3.84	4.09	1.22
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 2)	5.04	3.76	3.95	3.81	4.25	1.21
(II)	α -L-Fuc-OPr	5.10	3.87	4.05	4.64	4.20	1.26
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 2)	5.00	3.75	3.91	3.80	4.27	1.19
(III)	α -L-Fuc-OPr	5.07	3.85	4.05	4.62	4.18	1.23
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 2)	5.02	3.77	4.01	4.57	4.36	1.22
(IV)	α -L-Fuc-OPr	5.17	4.04	4.06	4.09	4.08	1.24
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 2)	5.08	3.78	3.72	3.79	4.15	1.24
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 3)	5.13	3.83	3.74	3.79	4.15	1.24
(V)	α -L-Fuc-OPr	5.18	4.13	4.24	4.85	4.17	1.30
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 2)	5.10	3.78	3.70	3.80	4.15	1.25
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 3)	5.28	3.82	3.75	3.77	4.22	1.25
(VI)	α -L-Fuc-OPr	5.20	4.12	4.25	4.87	4.18	1.30
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 2)	5.13	3.85	3.82	4.60	4.28	1.30
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 3)	5.28	3.77	3.79	3.80	4.22	1.25
(VII)	α -L-Fuc-OPr	5.21	4.11	4.25	4.87	4.19	1.30
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 2)	5.13	3.85	3.85	4.63	4.28	1.31
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 3)	5.31	3.86	3.93	4.60	4.35	1.31

* Спектры зарегистрированы при 30°C в D₂O с использованием ацетона (δ 2.25 м.д.) в качестве стандарта. Сигналы пропилагликона: OCH₂CH₂CH₃ 0.92 м.д.; OCH₂CH₂CH₃ 1.62–1.64 м.д.; OCH₂CH₂CH₃ 3.49–3.65 и 3.62–3.84 м.д.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Синтез сульфатированных производных ди- и трисахаридов (II), (III), (V)–(VII)

Целевые дисахаридные сульфатированные соединения (II) и (III) были синтезированы из общего предшественника дисахарида (VIII) [2]. Сульфатированием аллилфукобиозида (VIII) действием комплекса $\text{Ru} \cdot \text{SO}_3$ получали моносульфат (IX) с выходом 85%. Последующее удаление в нем защитных групп привело к продукту (II). Наличие сульфатной группы при C4 в соединении (II) подтверждалось смещением сигнала протона H4 в более слабое поле на 0.8 м.д. по сравнению с H4 его несulfатированного аналога (I) (δ 3.84 м.д. \rightarrow 4.64 м.д., табл. 1).

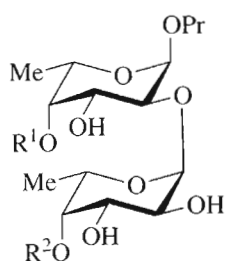
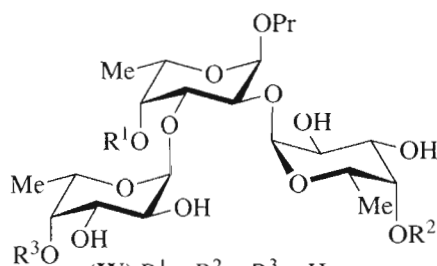
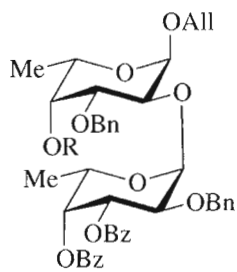
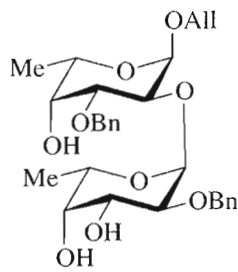
Для получения дисульфатированного дисахарида (III) в соединении (VIII) первоначально был модифицирован терминальный фукозный остаток: удалены бензоильные группы действием метилата натрия в метаноле, после чего проводилось региоизбирательное 3'-O-бензоилирование полученного триола (X) через промежуточное образование станнилиденового интермедиата [4]. Выход диола (XI) составил 66% в расчете на две стадии. Дисульфатирование диола (XI) и последующее удаление защитных групп в дисахариде (XII) приводило к получению целевого соединения (III). Наличие сульфатных групп при C4 и C4' в

соединении (III) подтверждалось смещением сигналов протонов H4 и H4' в слабое поле в спектре ^1H -ЯМР (3.84 м.д. \rightarrow 4.62 м.д., 3.81 м.д. \rightarrow 4.57 м.д., табл. 1)

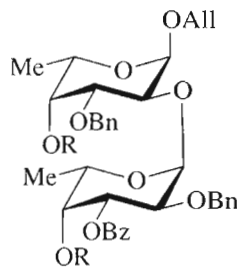
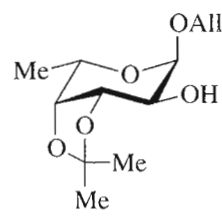
Для получения трисахаридов (V)–(VII) проводилось гликозилирование ацетонида (XIII) [2] трихлорацетимидатом (XV). Выбор фукозилдोनора (XV) основывался на результатах проведенного ранее нами исследования [5], в котором было показано, что наличие соучаствующих бензоильных заместителей при O3 и O4 способствует увеличению выхода α -изомера.

Взаимодействие ацетонида (XIII) и трихлорацетимидата (XV) в присутствии Me_3SiOTf приводило к α -стереоизбирательному образованию дисахарида (XVI) с выходом 80%. α -Конфигурация гликозидной связи в дисахариде (XVI) подтверждалась величиной КССВ $J_{1,2}$ в спектре ^1H -ЯМР, составляющей 3.4 Гц.

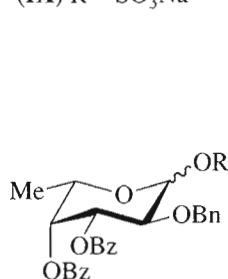
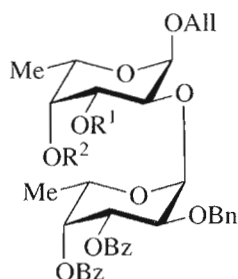
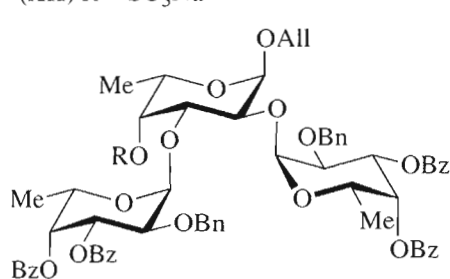
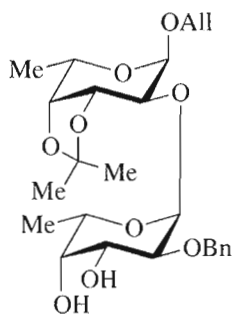
Удаление изопропилиденовой защиты в дисахариде (XVI) в условиях кислотного гидролиза и последующее α -стереоизбирательное 3-O-монофукозилирование образующегося диола (XVII) трихлорацетимидатом (XV) приводили к моногидроксильному трисахариду (XVIII) с выходом 81%. Конфигурация вновь созданной гликозидной связи подтверждалась величиной КССВ $J_{1,2}$ 3.5 Гц в спектре ^1H -ЯМР. Сульфатирование трисахарида (XVIII) и последующее удаление

(I) $R^1 = R^2 = H$ (II) $R^1 = SO_3Na, R^2 = H$ (III) $R^1 = R^2 = SO_3Na$ (IV) $R^1 = R^2 = R^3 = H$ (V) $R^1 = SO_3Na, R^2 = R^3 = H$ (VI) $R^1 = R^2 = SO_3Na, R^3 = H$ (VII) $R^1 = R^2 = R^3 = SO_3Na$ (VIII) $R = H$ (IX) $R = SO_3Na$ 

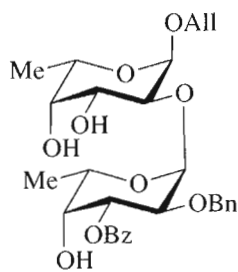
(X)

(XI) $R = H$ (XII) $R = SO_3Na$ 

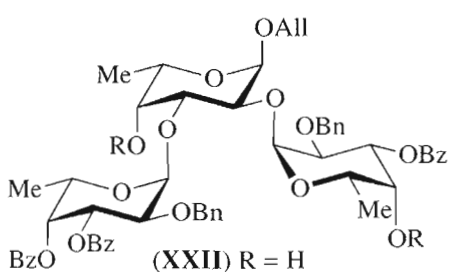
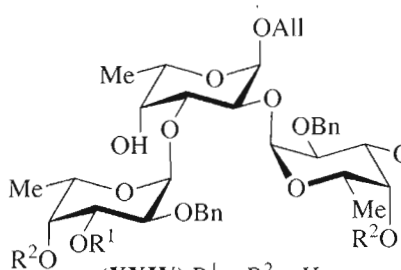
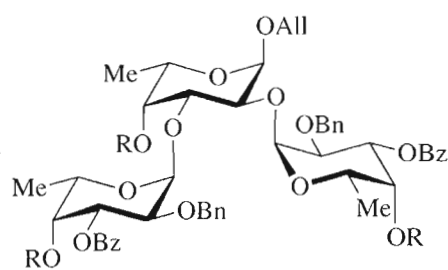
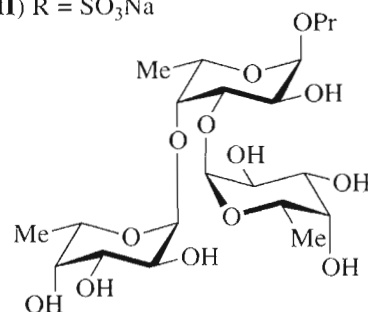
(XIII)

(XIV) $R = H$ (XV) $R = C(NH)CCl_3$ (XVI) $R^1 = R^2 = C(CH_3)_2$ (XVII) $R^1 = R^2 = H$ (XVIII) $R = H$ (XIX) $R = SO_3Na$ 

(XX)



(XXI)

(XXII) $R = H$ (XXIII) $R = SO_3Na$ (XXIV) $R^1 = R^2 = H$ (XXV) $R^1 = Bz, R^2 = H$ (XXVI) $R = SO_3Na$ 

(XXVII)

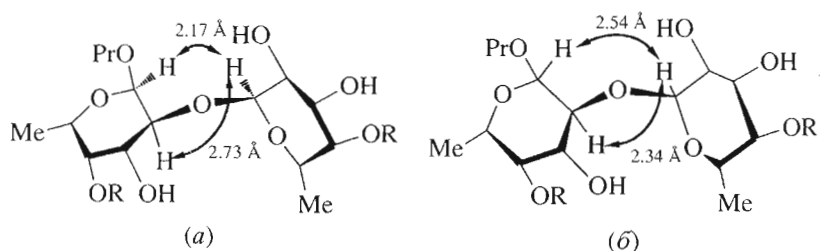


Рис. 1. Основной конформер соединений (I)–(III) по данным молекулярно-механических расчетов (а) и расчетов по методу ФП (б).

защитных групп в (XIX) приводили к получению целевого соединения (V). Наличие сульфатной группы при C4 в трисахариде (V) подтверждалось смещением сигнала протона H4 в слабое поле (4.09 м.д. → 4.85 м.д., табл. 1).

Синтез трисахаридов (VI), содержащего сульфатные группы при C4 восстанавливающего и терминального (при O2) остатка, был осуществлен из полученного ранее дисахарида (XVI). Удаление бензоильных защитных групп в дисахариде (XVI), региоизбирательное моно-3'-O-бензоилирование полученного диола (XX) через станниленовое производное и последующее дезацетонирование действием 90% водной CF₃COOH приводили к получению дисахарида (XXI) с выходом 77%. Наличие бензоильной группы при O3' в соединении (XXI) подтверждалось смещением сигнала протона H3' в спектре ¹H-ЯМР в более слабое поле на 1.59 м.д. по сравнению с H3' в соединении (XVI) (3.98 м.д. → 5.57 м.д., табл. 2).

3-O-Фукозилирование 3,4,4'-триола (XXI) трихлорацетимидатом (XV) прошло регио- и стереоспецифично, как и в случае синтеза трисахаридов (XVIII). Замещенный 2,3-разветвленный трисахарид (XXII) образовывался с выходом 80%. Конфигурация вновь созданной гликозидной связи подтверждалась величиной КССВ J_{1',2'} 3.4 Гц в спектре ¹H-ЯМР.

Бисульфатирование диола (XXIII) (выход 89%) и удаление защитных групп в (XXIII) приводили к целевому трисахариду (VI). Наличие сульфатных групп при C4 и C4' в трисахариде (VI) подтверждалось смещением сигналов протонов H4 и H4' в спектре ¹H-ЯМР в слабое поле (4.09 м.д. → 4.87 м.д. для H4, 3.79 м.д. → 4.60 м.д. для H4', табл. 2).

Для получения трисульфатированного трисахаридов (VII) проводили дебензоилирование трисахаридов (XVIII). Образующийся пентаол (XXIV) переводили в бистанниленовое производное, действием 2.2 экв. бензоилхлорида на которое получали 3',3''-ди-O-бензоилированный триол (XXV) с выходом 82%. Наличие бензоильных групп при O3' и O3'' в трисахариде (XXV) подтверждалось смещением сигналов протонов H3' и H3'' в спектре ¹H-ЯМР в более слабое поле по сравнению с H3' и H3''

в трисахариде (XXIV) (3.87 м.д. → 5.50 м.д. для H3', 3.89 м.д. → 5.55 м.д. для H3'', табл. 2).

Трисульфатирование триола (XXV) (выход 89%) и удаление защитных групп приводили к целевому трисахариду (VII). Наличие сульфатных групп при C4 всех фукозных остатков в трисахариде (VII) подтверждалось смещением сигналов протонов H4, H4' и H4'' в спектре ¹H-ЯМР в слабое поле (4.09 м.д. → 4.87 м.д. для H4, 3.79 м.д. → 4.63 м.д. для H4', 3.79 м.д. → 4.60 м.д. для H4'', табл. 2).

Конформационный анализ соединений (I)–(VII)

Методика проведения молекулярно-механических расчетов с использованием силового поля ММ3 была аналогична уже применявшейся в случае исследованных нами ранее [1, 4] фрагментов фукоиданов. Квантово-механические расчеты проводились при помощи программы Priroda [6], с шагом 10° по каждой координате, как и при расчетах с использованием силового поля ММ3, но используемый при этом диапазон значений φ и ψ составлял 0°–70° и –70°–80° соответственно. Этот интервал был выбран для сканирования, так как из молекулярно-механических расчетов было известно, что доля конформеров, лежащих вне его, пренебрежимо мала, и, таким образом, проводить сканирование всей конформационной карты, что в случае квантово-механических расчетов занимает много времени, было нецелесообразно. Кроме теоретических расчетов, конформации олигосахаридов (I)–(VII) исследовались также с привлечением экспериментов по ядерным эффектам Оверхаузера (ЯЭО). Сопоставление экспериментальных величин ЯЭО и величин, рассчитанных на основании теоретически предсказанного (ММ3) распределения конформеров, использовано нами в качестве контроля корректности теоретических расчетов. Расчет величин ЯЭО проводился как описано нами ранее [1].

В отличие от исследованных ранее олигофукозидов [1, 4], в случае (1 → 2)-связанных дисахаридов (I)–(III) молекулярно-механические расчеты по методу ММ3 приводили к результатам, существенно отличающимся от эксперименталь-

Таблица 2. Величины химических сдвигов (δ , м.д.) и КССВ $J_{1,2}$ (Гц) в спектрах ^1H -ЯМР* соединений (VIII)–(XII) и (XV)–(XXVI)

Соединение	Остаток	$J_{1,2}$	H1	H2	H3	H4	H5	H6
(VIII)	α -L-Fuc-OAll	3.4	5.10	4.09	4.16	3.93	4.01	1.34
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 2)	3.3	5.16	4.16	5.88	5.52	4.50	0.93
(IX)	α -L-Fuc-OAll	3.4	5.01	4.15	4.05	4.85	4.10	1.35
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 2)	3.4	5.32	4.10	5.70	5.28	4.35	0.75
(X)	α -L-Fuc-OAll	3.3	5.26	3.87	4.14	3.66	4.35	1.36
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 2)	3.4	5.22	4.30	4.03	4.05	4.11	1.20
(XI)	α -L-Fuc-OAll	3.5	5.08	4.14	4.03	3.91	3.99	1.33
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 2)	3.4	5.10	4.08	5.62	3.93	4.33	1.01
(XII)	α -L-Fuc-OAll	3.4	5.03	4.08	3.98	4.82	4.04	1.33
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 2)	3.4	5.14	4.11	5.56	4.59	4.36	0.97
(XV)	α -L-Fuc	3.4	6.69	4.31	5.81	4.77	4.56	1.27
	β -L-Fuc	8.1	5.99	4.19	5.51	5.65	4.14	1.35
(XVI)	α -L-Fuc-OAll	3.4	5.01	3.93	4.45	4.15	4.23	1.40
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 2)	3.4	5.23	4.20	5.85	5.74	4.70	1.21
(XVII)	α -L-Fuc-OAll	3.4	5.10	3.96	4.15	3.90	4.08	1.35
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 2)	3.4	5.23	4.21	5.84	5.73	4.64	1.25
(XVIII)	α -L-Fuc-OAll	3.4	5.26	4.29	4.34	3.88	4.02	1.39
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 2)	3.4	5.34	4.23	5.85	5.84	4.65	1.35
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 3)	3.5	5.17	4.25	5.86	5.91	4.82	1.30
(XIX)	α -L-Fuc-OAll	3.4	5.28	4.33	4.43	4.94	4.03	1.40
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 2)	3.5	5.53	4.20	6.02	5.85		1.22
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 3)	3.4	5.89	4.23	5.91	5.90	4.83	1.12
(XX)	α -L-Fuc-OAll	3.4	4.98	3.75	4.18	3.71	4.12	1.25
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 2)	3.4	5.16	3.68	3.98	4.14	4.22	1.19
(XXI)	α -L-Fuc-OAll	3.4	5.04	3.87	4.07	3.85	4.05	1.30
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 2)	3.4	5.10	4.15	5.57	4.12	4.40	1.30
(XXII)	α -L-Fuc-OAll	3.4	5.21	4.28	4.33	3.88	3.99	1.20–1.41
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 2)	3.4	5.22	4.15	5.60	4.28	4.46	
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 3)	3.4	5.13	4.21	5.75	5.88	4.76	
(XXIII)	α -L-Fuc-OAll	3.5	5.85	4.25	4.46	4.93	4.05	1.00–1.40
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 2)	3.4	5.40	4.16	5.76	4.95	4.55	
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 3)	3.4	5.28	4.25	6.07	5.85	4.86	
(XXIV)	α -L-Fuc-OAll	3.5	5.10	4.08	4.05	3.81	3.85	1.15–1.30
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 2)	3.4	5.13	3.68	3.87	3.65	4.15	
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 3)	3.4	5.04	3.74	3.89	3.65	4.24	
(XXV)	α -L-Fuc-OAll	3.4	5.21	4.21	4.30	3.83	3.96	1.35
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 2)	3.4	5.23	4.13	5.50	4.24	4.42	1.37
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 3)	3.4	5.03	4.19	5.55	4.32	4.62	1.30
(XXVI)	α -L-Fuc-OAll	3.3	5.15	4.18	4.36	4.80	3.85	1.25
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 2)	3.4	5.32	4.14	5.64	4.89	4.85	1.35
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 3)	3.4	5.63	4.16	5.85	4.95	4.62	1.30

* Спектры зарегистрированы при 30°C в CDCl_3 для соединений (VIII), (X), (XI), (XIII)–(XVIII), (XX)–(XXII), (XXIV), (XXV) и в CD_3OD для соединений (IX), (XII), (XIX), (XXIII), (XXVI). Другие сигналы: $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ 5.13–5.41 м.д.; $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ 5.78–6.05 и 5.70–5.87 м.д.; $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ 4.22–4.45 и 4.00–4.15 м.д.; PhCH_2 4.50–4.80 м.д.; $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$ 6.90–8.20 м.д.; $\text{C}_6\text{H}_5\text{CO}$ 7.45–7.93 м.д.

Таблица 3. Экспериментальные и рассчитанные (в скобках) по конформационному распределению из силового поля ММ3 величины ЯЭО для соединений (I)–(VII) и 3,4-разветвленного трифукозида (XXVII)

Соединение	Связь	H2'	H1	H2	H3	H4	H6
(I)		120(108)	89.5(140)	100			
(II)		114(108)	88(135)	100			
(III)		145(108)	65(140)	100			
(IV)	(1 → 2)	146(150)	109(100)	100(100)			
	(1 → 3)	100(100)			172(45 + 110)		
(V)	(1 → 2)	164(150)	133(120)	100(100)			
	(1 → 3)	138(145)			100(100)	143(155)	
(VI)	(1 → 2)	150(150)	100(115)	100(100)			
	(1 → 3)	150(140)			100(100)	125(135)	
(VII) ^a	(1 → 2)	151(150)	123(120)	100(100)			
	(1 → 3)	123(140)			100(100)	130(150)	
(VII) ^b	(1 → 2)	(150)	(120)	(100)			
	(1 → 3)	(105)			(100)	(320)	
(VII) ^b	(1 → 2)	(145)	(120)	(100)			
	(1 → 3)	(105)			(100)	(350)	
(VII) ^г	(1 → 2)	(150)	(128)	(100)			
	(1 → 3)	(105)			(100)	(350)	
(XXVII)	(1 → 3)	115(102)		20(0)	100(100)	80(95)	
	(1 → 4)	70(105)				100(100)	40(55)

^a Расчетные данные приведены для дианиона с недиссоциированной сульфогруппой в бисгликозилированном звене.

^b Трианион с диссоциированными сульфогруппами.

^b Дианион с недиссоциированной сульфогруппой в остатке фукозы при O2.

^г Дианион с недиссоциированной сульфогруппой в остатке фукозы при O3.

ных данных (табл. 3). Так, для величин ЯЭО на протоне H1' нами были получены завышенные значения. Это указывало на то, что молекулярная механика ошибочно предсказывает, что конформер со сближенными протонами H1 и H1' (рис. 1) является доминирующим.

Дисахариды (I)–(III) содержат 1,2-псевдоразветвление, благодаря вицинальному расположению пропильного агликона и присоединенного через (1 → 2)-связь фукозного остатка. Отметим, что молекулярная механика корректно описывает конформационное распределение вокруг гликозидной связи, несущей пропильный агликон. Из данных расчетов следовало, что OCH₂-группа агликона находится преимущественно в конформации, показанной на рис. 2. В такой конформации должен наблюдаться значительный ЯЭО между протоном H1 и одним из протонов метиленовой группы (Ha) и заметно меньший ЯЭО между протоном H1 и вторым метиленовым протоном (Hb). При этом между протоном Hb и протоном H5 пиранозного кольца также должен наблюдаться ЯЭО, но в несколько раз меньший по величине. Экспериментально все эти эффекты были зафиксированы: соотношение ЯЭО Ha/H1 к

Hb/H1 и Hb/H1 к Hb/H5 в случае дисахаридов (I)–(III) составляло 2 : 1 и 1 : 2–1 : 4.

На основании полученных данных можно было предположить, что расхождение между экспериментальными и рассчитанными величинами ЯЭО связано с некорректностью описания молекулярной механикой распределения конформеров вокруг (1 → 2)-связи. Для дальнейшего исследования этой проблемы мы провели расчеты также 3,4-разветвленного трифукозида (XXVII) [2]. В этом соединении, как и в дисахаридов (I)–(III), представлено вицинальное аксиально-экватори-

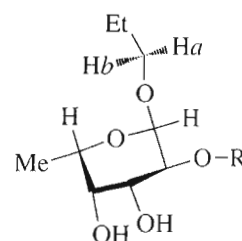


Рис. 2. Доминирующая конформация пропильного агликона в (1 → 2)-связанных дисахаридах.

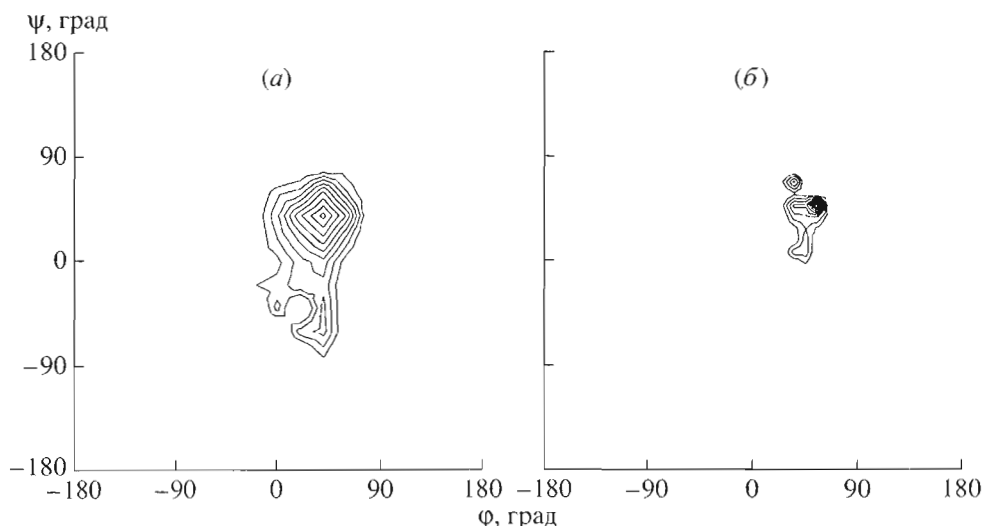


Рис. 3. Конформационные карты для дисахарида Fuc- α -(1 \rightarrow 3)-Fuc- α -OPr [4] (а) и (1 \rightarrow 3)- α -связанного фрагмента в 2,3-разветвленном трисахариде (IV) (б), полученные с использованием силового поля ММ3.

альное дизамещение, при этом для (1 \rightarrow 3)-связанного фукобиозидного звена наблюдается стереохимическая ситуация, подобная таковой для (1 \rightarrow 2)-связанного звена в дисахаридах (I)–(III).

Расчеты конформаций трисахарида (XXVII) по методу ММ3 привели к результатам, удовлетворительно совпадающим с экспериментальными данными (табл. 3). Из таблицы видно, что присутствие остатка фукозы в положении O4 приводит к возрастанию относительного ЯЭО на протоне H3. По аналогии, в случае (1 \rightarrow 2)-связи это должно было бы вызывать увеличение ЯЭО на протоне H2, что и наблюдается экспериментально, но не наблюдается в расчете. По нашему мнению, это может означать, что молекулярная механика неправильно описывает (1 \rightarrow 2)-гликозидную связь в присутствии пропильного агликона, который вызывает меньшие стерические затруднения, чем остаток фукозы. Поэтому для конформационного анализа соединений (I)–(III) нами был использован метод функционала плотности (ФП) [7], являющийся методом более высокого уровня теории.

Расчитанные по методу ФП теоретические и экспериментальные величины ЯЭО совпадали (табл. 4), то есть метод ФП корректно описывает

Таблица 4. Экспериментальные и рассчитанные (в скобках) по конформационному распределению из метода ФП величины ЯЭО для (1 \rightarrow 2)-фукобиозидов (I)–(III)

Соединение	H2'	H1	H2
(I)	120 (105)	89.5 (75)	100
(II)	114 (105)	88 (69)	100
(III)	145 (128)	65 (60)	100

конформацию (1 \rightarrow 2)-связи. Анализ величин ЯЭО показал, что в отличие от исследованных нами ранее (1 \rightarrow 3)-связанных дифукозидов [4], в ряду (1 \rightarrow 2)-связанных дифукозидов не происходит таких сильных конформационных изменений при введении сульфатной группы в O4. Это связано с пространственной удаленностью сульфатной группы при C4 и (1 \rightarrow 2)-связи.

Интересно отметить, что при переходе от несulfатированного (1 \rightarrow 2)-фукобиозида (I) к его 4,4'-ди-O-сульфатированному производному (III) наблюдается увеличение экспериментального и рассчитанного ЯЭО на протоне H2' по сравнению с величинами межостаточного ЯЭО. Такого изменения не наблюдалось при анализе соответствующих (1 \rightarrow 3)-дисахаридов [4]. Это может свидетельствовать, на наш взгляд, об увеличении валентного угла при гликозидном атоме кислорода в соединении (III). Такое изменение угла действительно наблюдается при расчетах, и величина его составляет приблизительно 2°.

(1 \rightarrow 2)-Связанное фукобиозидное звено может встречаться в фукоиданах не только в составе линейных цепей, но и в виде 2,3-разветвленного фрагмента [8, 9]. Чтобы исследовать возможное влияние на конформацию (1 \rightarrow 2)-звена, оказываемое фукозным заместителем при O3 нами были изучены разветвленные трисахариды (IV)–(VII).

В случае этих соединений результаты конформационных расчетов при использовании силового поля ММ3 и метода ФП соответствовали экспериментальным величинам ЯЭО (табл. 3). При переходе от (1 \rightarrow 2)-связанных дисахаридов (I)–(III) к соответствующим трисахаридам (IV)–(VII) наблюдается незначительное изменение конформа-

Таблица 5. Величины химических сдвигов (δ , м.д.) в спектрах ^{13}C -ЯМР* соединений (I)–(VII)

Соединение	Остаток	C1	C2	C3	C4	C5	C6
(I)	α -L-Fuc-OPr	96.6	73.3	69.2	73.1	67.7	16.5
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 2)	97.1	69.2	70.6	73.0	68.2	16.4
(II)	α -L-Fuc-OPr	96.3	73.5	68.4	81.4	66.6	16.5
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 2)	97.1	68.9	70.3	72.7	67.8	16.1
(III)	α -L-Fuc-OPr	96.6	74.0	68.5	81.9	66.9	16.9
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 2)	97.4	69.3	69.6	81.8	67.5	16.9
(IV)	α -L-Fuc-OPr	96.2	70.6	73.1	68.6	67.2	16.5
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 2)	96.6	68.95	71.1	72.9	68.3	16.5
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 3)	95.4	69.1	71.0	72.9	68.4	16.5
(V)	α -L-Fuc-OPr	96.3	71.0	71.4	78.0	67.2	17.1
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 2)	96.8	69.1	71.2	72.9	68.1	16.6
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 3)	95.6	69.2	71.4	72.9	68.4	16.5
(VI)	α -L-Fuc-OPr	96.3	71.3	71.5	78.1	67.2	17.1
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 2)	96.8	69.2	70.1	81.4	67.9	17.1
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 3)	95.8	69.2	71.3	72.9	68.2	16.6
(VII)	α -L-Fuc-OPr	96.4	71.5	71.8	78.2	67.2	17.1
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 2)	96.9	69.2	70.0	81.4	67.9	17.1
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 3)	95.9	69.4	70.2	81.5	67.6	17.1

* Спектры зарегистрированы при 30°C в D₂O с использованием ацетона (δ 31.5 м.д.) в качестве стандарта. Сигналы пропи- лагликона: OCH₂CH₂CH₃ 11.1 м.д.; OCH₂CH₂CH₃ 23.2–23.3 м.д.; OCH₂CH₂CH₃ 71.3 м.д.

дии (1 \rightarrow 2)-фукобиозидного фрагмента. В триса- харидах протоны H1 и H1' более сближены, что подтверждается некоторым увеличением ЯЭО на протоне H1 гликозилируемого остатка.

Конформация (1 \rightarrow 3)-фукобиозидного фраг- мента в трисахаридах (IV)–(VII) определяется нали- чием соседнего гликозидного остатка при O2, огра- ничивающего конформационную подвижность, особенно вокруг связи C3–O3 (угол вращения ψ), что наглядно видно при анализе конформацион- ных карт, приведенных на рис. 3. Указанное изме- нение конформаций приводит к сближению про- тонов H1' и H4. Это подтверждается и величина- ми ЯЭО на протоне H4 от протона H1', которые в 1.3–1.5 раза превышают ЯЭО на протоне H3.

Ранее [4] при изучении серии (1 \rightarrow 3)-связан- ных фукобиозидов мы наблюдали значительное изменение конформации вследствие 4-*O*-сульфа- тирования. Однако при сопоставлении данных для несультатированного трисахарида (IV) и его сультатированных производных (V)–(VII) нами не выявлено существенных конформационных разли- чий. Это свидетельствует о том, что в рассматрива- емых 2,3-разветвленных трисахаридах главным структурным элементом, определяющим общее конформационное состояние, является (1 \rightarrow 2)- фукобиозидный фрагмент, тогда как влияние 4-*O*- сультатирования имеет меньшее значение.

При расчете конформаций трисульфатирован- ного трисахарида (VII) наблюдалась ситуация, от- мечавшаяся нами ранее [1] при изучении 4,4',4"- трисульфатированного линейного (1 \rightarrow 3)-фу- котриозид, когда совпадение теоретических и экспериментальных величин ЯЭО было достиг- нуту только при использовании в расчете струк- туры, содержащей одну недиссоциированную из трех имеющихся сультатных групп. В данном случае (табл. 3) наилучшее совпадение было полу- чено для формы, содержащей незаряженную сульт- фатную группу в бисгликозилированном звене.

Нельзя утверждать, однако, что данный ре- зультат однозначно свидетельствует о том, что в растворе соединения (VII) действительно присут- ствует не полностью ионизованная форма, кото- рая должна быть неустойчивой в водной среде из- за автогидролиза. Кроме результатов расчета ве- личин ЯЭО нет никаких данных, указывающих на такую возможность. Сультфогруппы в основном конформере соединения (VII) не являются прост- ранственно сближенными (рис. 4) и изначально не очевидно, что ионизация двух из них должна приводить к затруднению ионизации третьей. Также трудно ожидать и пространственных за- труднений для противоионов в триионизованной структуре. Результаты исследования трисахарида (VII) и его линейного изомера [1] показывают, что конформационные расчеты олигоионных произ-

Таблица 6. Величины эффектов сульфатирования ($\Delta\delta$, м.д.) в спектрах ^{13}C -ЯМР для соединений (II), (III), (V)–(VII)

Соединение	Остаток	C1	C2	C3	C4	C5	C6
(II)	α -L-Fuc-OPr	0.2	0.6	-0.4	8.8	-0.7	0.5
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 2)	0.5	0.2	0.2	0.1	0.1	0.2
(III)	α -L-Fuc-OPr	0	0.7	-0.7	8.8	-0.8	0.4
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 2)	0.3	0.1	-1.0	8.8	-0.7	0.5
(V)	α -L-Fuc-OPr	0.1	0.4	-1.7	9.4	0	0.6
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 2)	0.2	0.2	0.1	0	-0.2	0.1
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 3)	0.2	0.1	0.4	0	0	0
(VI)	α -L-Fuc-OPr	0.1	0.7	-1.6	9.5	0	0.6
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 2)	0.2	0.3	-1	8.5	-0.4	0.6
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 3)	0.4	0.1	0.3	0	-0.2	0.1
(VII)	α -L-Fuc-OPr	0.2	0.9	-1.3	9.6	0	0.6
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 2)	0.3	0.3	-1.1	8.5	-0.4	0.6
	α -L-Fuc-(1 \rightarrow 3)	0.5	0.3	-0.8	8.6	-0.8	0.6

водных олигосахаридов даже при использовании методов такого высокого уровня, как метод ФП, сопряжены с возможной ошибкой из-за принудительного упрощения этих сложных соединений при задании расчетной модели. Выявление причин неадекватного описания конформаций многозарядных углеводных молекул, к которым относится трисахарид (VII), с помощью методов молекулярной механики требует дальнейшего исследования.

Анализ спектров ^{13}C -ЯМР соединений (I)–(VII)

Нами также исследованы особенности спектров ЯМР олигосахаридов (I)–(VII) и их взаимосвязь с конформационными характеристиками. В табл. 1 и 5 представлены данные спектров ^1H - и ^{13}C -ЯМР соединений (I)–(VII), а в табл. 6 – величины эффектов сульфатирования в спектрах

^{13}C -ЯМР соединений (II), (III) и (V)–(VII), рассчитанные по уравнению: $\Delta\delta C_i = \delta C_i(A) - \delta C_i(B)$, где А и В – сульфатированное и несulfатированное соединения.

Наблюдаемые в спектрах ЯМР эффекты сульфатирования для олигосахаридов, соответствующих фрагментам фукоиданов, изучались нами ранее [1, 4] в рамках концепции Гранта и Чини [10]. Аналогичный подход был использован нами и для соединений (I)–(VII).

Наличие пространственно удаленной от (1 \rightarrow 2)-связи сульфогруппы при О4 гликозилируемого остатка в дифукозидах (II)–(III) слабо сказывается на конформации этой связи. Таким образом, эффекты сульфатирования как в гликозилируемом, так и в гликозилирующем остатке обусловлены только электроноакцепторными свойствами сульфогруппы. Влияние различия межпротонных расстояний из-за разных конформаций (концепция Гранта–Чини) в данном случае отсутствует. Это проявляется в сопоставимости эффектов сульфатирования гликозилируемых остатков соединений (II)–(III) с эффектом сульфатирования гликозилирующего остатка соединения (III) (табл. 6).

Заметное увеличение эффектов сульфатирования на С4 центральных остатков по сравнению с влиянием на С4 гликозилирующих остатков в сульфатированных трисахаридах (V)–(VII) обусловлено изменением конформации (1 \rightarrow 3)-связи по сравнению с несulfатированным трисахаридом (IV) (табл. 6). Согласно экспериментальным и рассчитанным величинам ЯЭО (табл. 3), в сульфатированных трисахаридах (V)–(VII) происходит уменьшение ЯЭО на протоне Н4 и увеличение на Н3 центрального остатка в ответ на возбуждение Н1'-протона (1 \rightarrow 3)-связанного остатка.

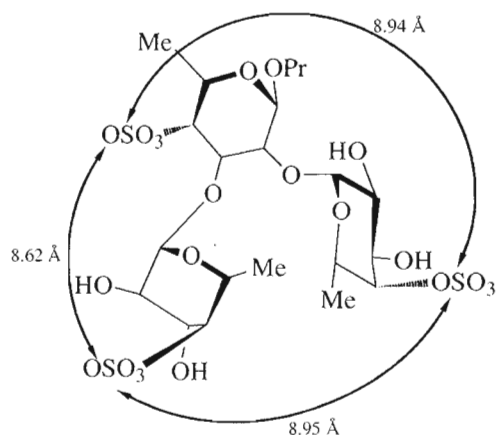


Рис. 4. Основной конформер разветвленного трисахарида (VII) и расстояния между сульфатными группами.

Это соответствует увеличению среднего расстояния между H1' и H4.

В отличие от (1 → 3)-связанных дисахаридов [4] и линейных трисахаридов [1], в случае 2,3-разветвленных трисахаридов (V)–(VII) отсутствовал ярко выраженный положительный эффект на химических сдвигах атомов C1' (1 → 3)-связанных остатков в ответ на 4-*O*-сульфатирование центрального остатка. Это свидетельствует о малых изменениях конформации (1 → 3)-гликозидной связи по сравнению с ее изменением при сульфатировании (1 → 3)-связанных дифукозидов [4].

Как и следовало ожидать, эффекты сульфатирования 2-*O*-гликозилирующих остатков трисахаридов (V)–(VII) сопоставимы с эффектами сульфатирования в (1 → 2)-связанных дисахаридах (II)–(III) (табл. 5).

ВЫВОДЫ

В ходе данной работы проведен синтез и изучены конформации серии фукоолигосахаридов, содержащих α-(1 → 2)-гликозидную связь и 2,3-диекваториальное разветвление. В случае (1 → 2)-связанных фукобиозидов совпадения рассчитанных и экспериментальных величин ЯЭО удается достичь только при использовании неэмпирического метода ФП. Показано, что сульфатирование положения O4 мало влияет на конформацию (1 → 2)-гликозидной связи. Для серии вицинально разветвленных фукотриозидов установлено, что главным фактором, определяющим конформацию как (1 → 2)-, так и (1 → 3)-связи, является присутствие в соседнем положении остатка фукозы, а присутствие сульфатной группы при O4 оказывает заметно меньшее влияние.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Методики очистки растворителей и реагентов приведены в работе [11]. ¹H- и ¹³C-спектры олигосахаридов были зарегистрированы на спектрометре Bruker DRX500 в D₂O с 0.05% содержанием ацетона в качестве стандарта (¹H – 2.225 м.д., ¹³C – 31.45 м.д.). Для отнесения резонансов в одномерных спектрах использовались 2D-эксперименты со встроенным градиентным импульсом, такие, как gCOSY, gNOESY, gHSQC, а также 2D-эксперимент TOCSY. Экспериментальные величины ЯЭО были получены с помощью 2D-методики gNOESY на спектрометре Bruker DRX500 в растворе D₂O (99.98% D, Merck) при 303 K, со временем смешивания 500 мс и релаксационной задержкой 5 с. 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 опрыскиванием 10 об.% раствором ортофосфорной кислоты в этиловом спирте с последую-

щим нагреванием при ~150°C. Колоночную хроматографию выполняли на силикагеле Silica gel 60 (Fluka) 0.063 – 0.2 мм. Гель-хроматографию незащитенных сульфатированных соединений (II), (III) и (V)–(VII) осуществляли на геле Sephadex G-10, размеры колонки (2 × 20 см), элюент – вода.

Общая методика сульфатирования. К раствору нессульфатированного производного (0.1 ммоль) в DMF (1 мл) добавляли комплекс Pu · SO₃ (80 мг, 0.5 ммоль) и перемешивали в течение 1 ч. К реакционной смеси добавляли NaHCO₃ (150 мг) и КУ-2 (Na⁺) и продолжали перемешивание еще в течение 1 ч. Раствор отфильтровывали от соды и ионообменной смолы и концентрировали до объема 1 мл. Колоночной хроматографией на силикагеле выделяли сульфатированное производное.

Натриевую соль аллил-2-*O*-(2-*O*-бензил-3,4-ди-*O*-бензоил-α-*L*-фукопиранозил)-3-*O*-бензил-4-*O*-сульфо-α-*L*-фукопиранозида (IX) получали сульфатированием соединения (VIII) [2] (83 мг, 0.11 ммоль). Выход 80 мг (85%), *R*_f 0.46 (дихлорметан–метанол, 5 : 1), [α]_D –227° (*c* 2, метанол).

Аллил-2-*O*-(2-*O*-бензил-α-*L*-фукопиранозил)-3-*O*-бензил-α-*L*-фукопиранозид (X). К раствору дисахарида (VIII) (114 мг, 0.15 ммоль) в метаноле (2 мл) добавляли 1 М раствор метилата натрия в метаноле (0.1 мл) и выдерживали в течение 3 ч при 40°C. Раствор нейтрализовали КУ-2 (H⁺), отфильтровывали от ионообменной смолы и концентрировали. Колоночной хроматографией из остатка выделяли триол (X) (70 мг, 88%), *R*_f 0.14 (толуол–этилацетат, 1 : 1), [α]_D –159° (*c* 1, метанол). Элементный анализ для C₂₉H₃₈O₉ (530.62): C 65.66%; H 7.17%. Найдено: C 65.61%; H 6.93%.

Аллил-2-*O*-(2-*O*-бензил-3-*O*-бензоил-α-*L*-фукопиранозил)-3-*O*-бензил-α-*L*-фукопиранозид (XI). Смесь дисахарида (X) (64 мг, 0.12 ммоль) и Bu₂SnO (33 мг, 0.13 ммоль) в абсолютном толуоле (2 мл) кипятили до полного растворения. Раствор концентрировали до объема 0.5 мл, прибавляли бензоилхлорид (0.02 мл, 0.14 ммоль) и выдерживали в течение 1 ч. Реакционную смесь концентрировали, из остатка колоночной хроматографией выделяли бензоат (XI) (56 мг, 75%), *R*_f 0.58 (толуол–этилацетат, 1 : 2), [α]_D –191° (*c* 1, этилацетат).

Динатриевую соль аллил-2-*O*-(2-*O*-бензил-3-*O*-бензоил-4-*O*-сульфо-α-*L*-фукопиранозил)-3-*O*-бензил-4-*O*-сульфо-α-*L*-фукопиранозида (XII) получали дисульфатированием диола (XI) (82 мг, 0.13 ммоль) комплексом Pu · SO₃ (206 мг, 1.3 ммоль). Выход 95 мг (87%), *R*_f 0.21 (дихлорметан–метанол, 10 : 3), [α]_D –185° (*c* 1, метанол).

2-*O*-Бензил-3,4-ди-*O*-бензоил-α-*L*-фукопиранозилтрихлорацетимидат (XV). В атмосфере аргона полуацеталь (XIV) [2] (462 мг, 1 ммоль) растворяли в дихлорметане (15 мл), добавляли CCl₃CN (1 мл), охлаждали до –30°C, добавляли 1,8-диазабицикло[5.4.0]ундец-7-ен (0.06 мл) и выдержива-

ли 1 ч. Колоночной хроматографией на силикагеле, пассивированном триэтиламин, выделяли имидат (XV) в виде смеси аномеров (588 мг, 97%), R_f 0.54 для β -аномера, R_f 0.73 для α -аномера (толуол-этилацетат-триэтиламин, 2 : 1 : 0.01).

Общая методика гликозилирования. В атмосфере аргона смешивали трихлорацетимидат (XV) (1 ммоль) и фукозиллактон (1 ммоль), растворяли в дихлорметане (22 мл), охлаждали до -30°C , добавляли 0.1 М раствор Me_3SiOTf в дихлорметане (50 мкл) и выдерживали 30 мин. К реакционной смеси добавляли триэтиламин (1 мл), концентрировали в вакууме, колоночной хроматографией из остатка выделяли продукт гликозилирования.

Аллил-2-О-(2-О-бензил-3,4-ди-О-бензоил- α -L-фукопиранозил)-3,4-О-изопропилиден- α -L-фукопиранозид (XVI) получали гликозилированием ацетонида (XIII) [2] (58 мг, 0.23 ммоль) трихлорацетимидатом (XV) (140 мг, 0.23 ммоль). Выход 123 мг (78%), R_f 0.73 (толуол-этилацетат, 2 : 1), $[\alpha]_D -247^\circ$ (с 2, этилацетат).

Аллил-2-О-(2-О-бензил-3,4-ди-О-бензоил- α -L-фукопиранозил)- α -L-фукопиранозид (XVII). Дисахарид (XVI) (68 мг, 0.1 ммоль) растворяли в смеси дихлорметана (1 мл) и 90% водной CF_3COOH (0.5 мл), выдерживали в течение 30 мин, концентрировали и соупаривали с толуолом (5 \times 5 мл). Колоночной хроматографией из остатка выделяли диол (XVII) (56 мг, 87%), R_f 0.1 (толуол-этилацетат, 2 : 1), $[\alpha]_D -233^\circ$ (с 2, этилацетат).

Аллил-2,3-ди-О-(2-О-бензил-3,4-ди-О-бензоил- α -L-фукопиранозил)- α -L-фукопиранозид (XVIII) получали гликозилированием диола (XVII) (115 мг, 0.18 ммоль) трихлорацетимидатом (XV) (109 мг, 0.18 ммоль). Выход 157 мг (80%), R_f 0.54 (толуол-этилацетат, 2 : 1), $[\alpha]_D -219^\circ$ (с 2, этилацетат).

Натриевую соль аллил-2,3-ди-О-(2-О-бензил-3,4-ди-О-бензоил- α -L-фукопиранозил)-4-О-сульфо- α -L-фукопиранозид (XIX) получали сульфатированием трисахарида (XVIII) (160 мг, 0.15 ммоль). Выход 138 мг (90%), R_f 0.93 (дихлорметан-метанол, 5 : 1), $[\alpha]_D -230^\circ$ (с 2, метанол).

Аллил-2-О-(2-О-бензил- α -L-фукопиранозил)-3,4-О-изопропилиден- α -L-фукопиранозид (XX) получали дебензоилированием дисахарида (XVI) (41 мг, 0.06 ммоль) как описано для получения (X). Выход 25 мг (88%), R_f 0.17 (толуол-этилацетат, 1 : 1), $[\alpha]_D -184^\circ$ (с 1, метанол).

Аллил-2-О-(2-О-бензил-3-О-бензоил- α -L-фукопиранозил)- α -L-фукопиранозид (XXI) получали монобензоилированием диола (XX) (35 мг, 0.06 ммоль), как описано для получения (XI), и последующим удалением изопропилиденной защиты как описано для получения (XVII). Выход 30 мг (77%), R_f 0.17 (толуол-этилацетат, 2 : 3), $[\alpha]_D -194^\circ$ (с 1, метанол).

Аллил-2-О-(2-О-бензил-3-О-бензоил- α -L-фукопиранозил)-3-О-(2-О-бензил-3,4-ди-О-бензоил- α -L-фукопиранозил)- α -L-фукопиранозид (XXII) полу-

чали гликозилированием триола (XXI) (22 мг, 0.04 ммоль) трихлорацетимидатом (XV) (242 мг, 0.04 ммоль). Выход 32 мг (80%), R_f 0.56 (толуол-этилацетат, 1 : 1), $[\alpha]_D -167^\circ$ (с 1, метанол).

Динатриевую соль аллил-2-О-(2-О-бензил-3-О-бензоил-4-О-сульфо- α -L-фукопиранозил)-3-О-(2-О-бензил-3,4-ди-О-бензоил- α -L-фукопиранозил)-4-О-сульфо- α -L-фукопиранозид (XXIII) получали сульфатированием диола (XXII) (44 мг, 0.05 ммоль). Выход 53 мг (89%), R_f 0.21 (дихлорметан-метанол, 5 : 1), $[\alpha]_D -153^\circ$ (с 1, MeOH).

Аллил-2,3-ди-О-(2-О-бензил- α -L-фукопиранозил)- α -L-фукопиранозид (XXIV) получали дебензоилированием трисахарида (XVIII) (50 мг, 0.05 ммоль) как описано для получения (X). Выход 26 мг (90%), R_f 0.38 (этилацетат-метанол, 10 : 1), $[\alpha]_D -145^\circ$ (с 1, метанол).

Аллил-2,3-ди-О-(2-О-бензил-3-О-бензоил- α -L-фукопиранозил)- α -L-фукопиранозид (XXV) получали дебензоилированием трисахарида (XXIV) (30 мг, 0.04 ммоль) как описано для получения (XI), (Bu_2SnO (25 мг, 0.1 ммоль), бензоилхлорид (0.03 мл, 0.2 ммоль)). Выход 32 мг (82%), R_f 0.49 (толуол-этилацетат, 1 : 1), $[\alpha]_D -168^\circ$ (с 1, этилацетат).

Тринатриевую соль аллил-2,3-ди-О-(2-О-бензил-3-О-бензоил-4-О-сульфо- α -L-фукопиранозил)-4-О-сульфо- α -L-фукопиранозид (XXVI) получали трисульфатированием триола (XXV) (30 мг, 0.03 ммоль). Выход 36 мг (89%), R_f 0.33 (дихлорметан-метанол, 3 : 1), $[\alpha]_D -160^\circ$ (с 1, метанол).

Общая методика деблокирования и трансформации агликона. К раствору защищенного олигосахарида (0.06 ммоль) в метаноле (3 мл) добавляли катализатор 10% Pd/C (10 мг), раствор дегазировали, колбу заполняли водородом. Реакционную массу перемешивали в течение 1 ч, отфильтровывали от Pd/C через слой целита и концентрировали в вакууме. Сухой остаток растворяли в 1 мл дистиллированной воды, добавляли 0.8 мл 0.5 М водного раствора NaOH и выдерживали в течение 3 ч. Из реакционной смеси гель-хроматографией на носителе Sephadex G-10 выделяли деблокированный олигосахарид.

Натриевую соль пропил-2-О-(α -L-фукопиранозил)-4-О-сульфо- α -L-фукопиранозид (II) получали из (IX) (50 мг, 0.06 ммоль). Выход 22 мг (80%), $[\alpha]_D -140^\circ$ (с 1, H_2O).

Динатриевую соль пропил-2-О-(4-О-сульфо- α -L-фукопиранозил)-4-О-сульфо- α -L-фукопиранозид (III) получали из (XII) (50 мг, 0.058 ммоль). Выход 27 мг (80%), $[\alpha]_D -144^\circ$ (с 1, H_2O).

Натриевую соль пропил-2,3-ди-О-(α -L-фукопиранозил)-4-О-сульфо- α -L-фукопиранозид (V) получали из (XIX) (60 мг, 0.05 ммоль). Выход 23 мг (78%), $[\alpha]_D -117^\circ$ (с 0.77, H_2O).

Динатриевую соль пропил-2-О-(4-О-сульфо- α -L-фукопиранозил)-3-О-(α -L-фукопиранозил)-4-О-

сульфо- α -L-фукопиранозид (VI) получали из (XXIII) (95 мг, 0.08 ммоль). Выход 41 мг (74%), $[\alpha]_D -140^\circ$ (с 0.7, H₂O).

Тринатриевую соль пропил-2,3-ди-O-(4-O-сульфо- α -L-фукопиранозил)-4-O-сульфо- α -L-фукопиранозид (VII) получали из (XXVI) (71 мг, 0.06 ммоль). Выход 37 мг (76%), $[\alpha]_D -147^\circ$ (с 0.63, H₂O).

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (гранты № 01-033059а, 01-04-48401, 02-03-06589-МАС, 02-03-06588-МАС), 6-го конкурса экспертизы (грант 129 (№ 15 по разделу 7 – Общая и техническая химия)), Фонда содействия отечественной науке и Международной Соросовской программы в области точных наук.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Gerbst A.G., Ustuzhanina N.E., Grachev A.A., Khatuntseva E.A., Tsvetkov D.E., Shashkov A.S., Usov A.I., Preobrazhenskaya M.E., Ushakova N.A., Nifantiev N.E. // J. Carbohydr. Chem. 2003. V. 22(2). P. 37–50.
2. Khatuntseva E.A., Ustuzhanina N.E., Zatonkii G.V., Shashkov A.S., Usov A.I., Nifant'ev N.E. // J. Carbohydr. Chem. 2000. V. 19(9). P. 1151–1173.
3. Berteau O., Mulloy B. // Glycobiology. 2003. V. 13(6). P. 29–40.
4. Gerbst A.G., Ustuzhanina N.E., Grachev A.A., Zlotina N.S., Khatuntseva E.A., Tsvetkov D.E., Shashkov A.S., Usov A.I., Nifantiev N.E. // J. Carbohydr. Chem. 2002. V. 21(4). P. 313–324.
5. Gerbst A.G., Ustuzhanina N.E., Grachev A.A., Khatuntseva E.A., Tsvetkov D.E., Whitfield D.M., Berces A., Nifantiev N.E. // J. Carbohydr. Chem. 2001. V. 20(9). P. 821–831.
6. Laikov D.N. // Chem. Phys. Lett. 1997. V. 281. P. 151–156.
7. Eklund R., Widmalm G. // Carbohydr. Res. 2003. V. 338. P. 393–398.
8. Pereira M.S., Mulloy B., Mourao P.A. // J. Biol. Chem. 1999. V. 274. P. 7656.
9. Patankar M.S., Oehninger S., Barnett T., Williams R.L., Clark G.F. // J. Biol. Chem. 1993. V. 268. P. 21770.
10. Grant D.M., Cheney B.V. // J. Am. Chem. Soc. 1967. V. 89(21). P. 5315–5319.
11. Нифантьев Н.Э., Бакиновский Л.В., Липкинд Г.М., Шашков А.С., Кочетков Н.К. // Биооргани. химия. 1991. Т. 17. С. 517–530.

The Synthesis and NMR and Conformational Studies of Fucoidan Fragments: VI. Fragments with an α -(1 \rightarrow 2)-Bound Fucobioside Unit

A. G. Gerbst*, A. A. Grachev*, N. E. Ustuzhanina*, E. A. Khatuntseva*,
D. E. Tsvetkov*, A. I. Usov*, A. S. Shashkov*, M. E. Preobrazhenskaya**,
N. A. Ushakova**, and N. E. Nifantiev**

Phone: +7 (095) 135-8784; e-mail: nen@ioc.ac.ru

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

**Orekhovich Institute of Biomedical Chemistry, Russian Academy of Medical Sciences,

Pogodinskaya ul. 10, Moscow, 119832 Russia

A series of selectively sulfated di- and trisaccharide derivatives corresponding to the potential fragments of fucoidans with a (1 \rightarrow 2)- α -bound fucobioside unit were synthesized and studied by ¹H and ¹³C NMR spectroscopy. NOE experiments and molecular modeling were used for a conformational analysis of the compounds synthesized. In the case of disaccharides, the experimental NOE values were found to agree with those obtained using modeling with the use of density functional theory (DFT) and differ from those resulting from modeling by the molecular mechanics MM3 force field. Trisaccharide fragments partially or completely sulfated in position 4 turned out to be correctly described by both MM3 force field and DFT computation. The English version of the paper: *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2004, vol. 30, no. 2; see also <http://www.maik.ru>.

Key words: conformational analysis; density functional theory; fucoidans, synthesis of fragments; molecular mechanics; NOE