

чены либо в виде свободных олигосахаридов [4, 7], либо в виде ацилированных аллилгликозидов [5], что существенно затрудняет их использование в синтезе неогликоконъюгатов. Известно также получение олигосахаридных последовательностей **A** и **C**, входящих в виде составных частей в более крупные олигосахаридные структуры [8–11]. Синтез разветвленной олигосахаридной последовательности типа **D** до настоящего времени в литературе не описан.

В настоящем сообщении мы описываем синтез олигосахаридов (**I**)–(**III**), отвечающих трем типам структур боковых цепей (**A**, **C** и **D**) маннана клеточной стенки *C. albicans*, в виде 3-аминопропилгликозидов. Наличие аминогруппы в агликоне синтетических олигосахаридов позволяет осуществлять их последующее ковалентное связывание с высокомолекулярными носителями (синтетическими или белковыми) и метками различных типов. В частности, нами был получен конъюгат олигосахаридов (**III**) с бычьим сывороточным альбумином (БСА) для его последующего иммунологического изучения. Неогликоконъюгаты и молекулярные пробы подобного типа являются ценными инструментами для гликобиологических исследований и могут служить основой для создания вакцинных препаратов нового поколения.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для построения ( $\alpha 1$ – $2$ )-связанных манноолигосахаридов обычно используются гликозилирующие агенты, содержащие в положениях 3, 4 и 6 постоянные защитные группы (бензильные или бензоильные), а в положении 2 – ацетильную группу, которая обеспечивает высокую стереосе-

лективность  $\alpha$ -маннозилирования за счет соучастия и которую можно легко удалить из продукта гликозилирования, не затронув другие защитные группы. В нашей работе мы использовали в качестве такого гликозилирующего агента известный тиоманнозид (**IV**) [12].

При гликозилировании 3-трифторацетидамидопропанола (**V**) тиогликозидом (**IV**) в присутствии NIS и TfOH гладко образуется гликозид (**VI**), из которого дезацетилированием был получен моносахаридный гликозилакцептор (**VII**) (схема 1). Повторение операций гликозилирования и дезацетилирования приводит к дисахаридному акцептору (**IX**).

Строение продуктов гликозилирования, прежде всего конфигурация вновь образовавшихся гликозидных связей, была установлена на основании данных спектроскопии ЯМР. Известно, что вицинальная КССВ  $J_{1,2}$  и химический сдвиг атома C1 в спектрах, соответственно  $^1\text{H}$ - и  $^{13}\text{C}$ -ЯМР, для маннозных остатков не являются, в отличие от других моносахаридов, характеристичными при определении конфигурации образуемой ими связи. В то же время величина химического сдвига сигнала H5 может служить достаточно надежным индикатором аномерной конфигурации маннозидов [13]. Для продуктов гликозилирования (**VI**) и (**VIII**) сигналы H5 расположены в области  $\delta$  3.70–4.00, что хорошо согласуется с данными для 3,4,6-три-*O*-бензилированных  $\alpha$ -маннозидов [6, 14]; протоны H5 для  $\beta$ -связанных остатков маннозы резонируют в области  $\delta$  3.30–3.40 [14]. Необходимо отметить, что присутствие однотипно защищенных бензилированных моносахаридных остатков в дисахаридах (**VIII**), (**IX**) и трисахаридах (см. ниже) вызывает сильное перекрывание сигналов коль-

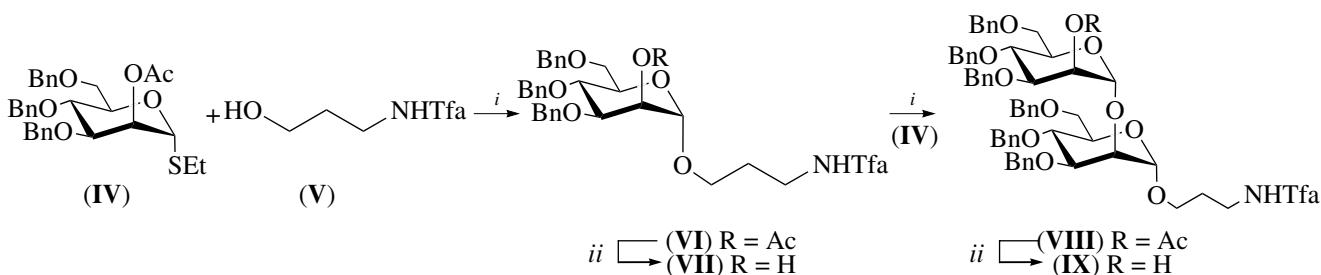


Схема 1. *i*) NIS, TfOH, MS  $4\text{Å}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; *ii*) MeONa, MeOH.

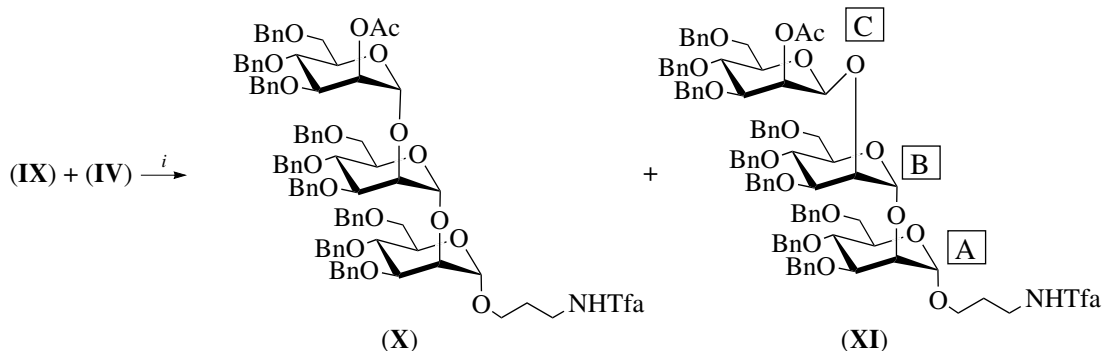


Схема 2. *i*) NIS, TFOH, MS 4Å, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>.

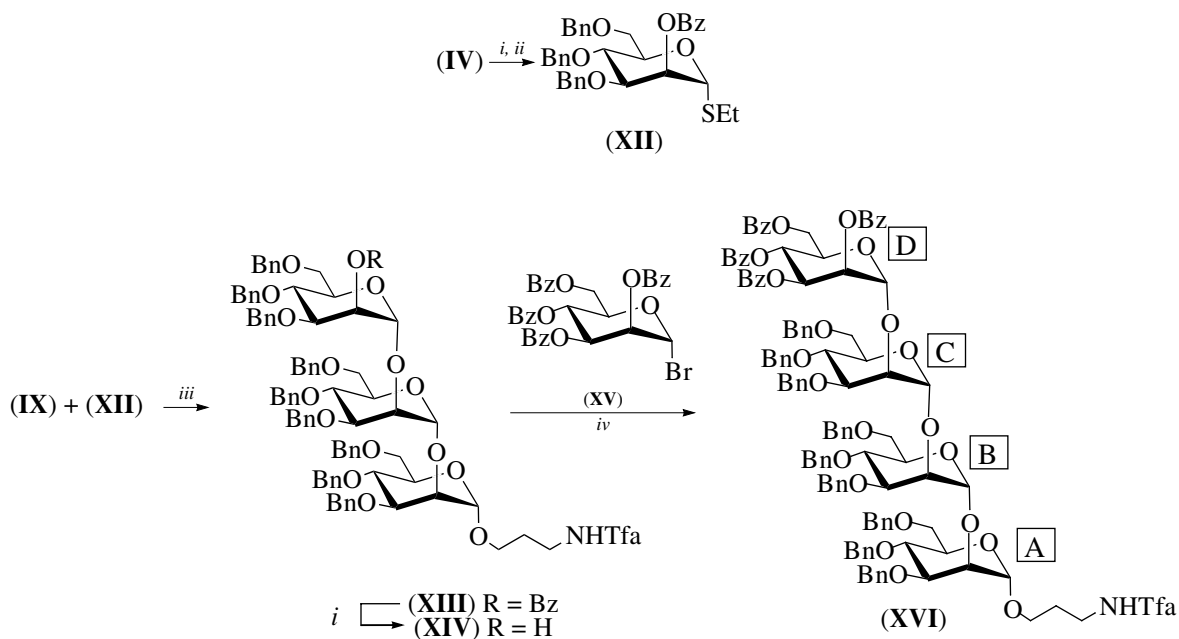


Схема 3. *i*) MeONa, MeOH; *ii*) BzCl, Py; *iii*) NIS, TFOH, MS 4Å, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; *iv*) AgOTf, MS 4Å, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>.

цевых протонов Н3–Н6 остатков маннозы в спектрах <sup>1</sup>Н-ЯМР, что существенно затрудняет их надежное отнесение. Поэтому при описании спектров ЯМР (1–2)-связанных олигосахаридов (см. “Эксперимент. часть”) мы приводим полное отнесение сигналов только для конечного невосстанавливающего моносахаридного остатка, который вводился при гликозилировании или подвергался дезацилированию при получении нового гликозилакцептора. Для остальных моносахаридных остатков приводятся только данные для аномерных атомов Н и С.

При гликозилировании тиоманнозидом (IV) дисахаридного акцептора (IX) была получена смесь ожидаемого α-связанного трисахарид (X) и его β-аномера по конечному невосстанавливающему остатку С (XI) с преобладанием последнего (схема 2). В трисахариде (X) сигнал Н5 конечного

невосстанавливающего остатка маннозы лежит при δ 3.96, что подтверждает его α-конфигурацию, тогда как в производном (XI) сигнал Н5 β-связанного остатка маннозы смещен в сильное поле (δ 3.33). Учитывая высокую склонность гликозилдодоров маннопиранозы к стереоселективному α-гликозилированию, даже если при О2 находится несоучаствующий, например гликозильный [4, 5, 8–10], заместитель, такой результат оказался весьма неожиданным.

Для повышения α-стереоселективности маннозилирования дисахаридного акцептора (IX) мы заменили ацетильную группу в маннозилдодоре (IV) на бензоильную с получением тиогликозида (XII) [15] (схема 3). Действительно, использование бензоилированного производного (XII) позволило свести образование β-аномера к минимуму; целевой α-трисахарид (XIII) был получен в

результате с выходом 64%. Более высокую стереоселективность маннозилрования в случае донора (XII) можно объяснить меньшей склонностью фенилзамещенного 1,2-диоксолиениевого интермедиата к изомеризации в гликозил-катион по сравнению с метилзамещенным аналогом в случае ацетилированного донора (IV).

Удаление бензоильной группы в трисахариде (XIII) приводит к акцептору (XIV). Поскольку мы не планировали дальнейшее наращивание олигосахаридной цепи, то на заключительной стадии в качестве маннозилдонера мы использовали не тиогликозид (IV), а гораздо более доступную бензобромманнозу (XV). Взаимодействие бромиды (XV) с акцептором (XIV) в присутствии трифлата серебра приводит к целевому тетрасахариду (XVI) с выходом 68% (схема 3).  $\alpha$ -Конфигурация конечного маннозного звена D однозначно следовала из слабополюсного положения сигнала H5 ( $\delta$  4.65) в спектре  $^1\text{H}$ -ЯМР соединения (XVI).

Для синтеза тетрасахарида (II) мы воспользовались схемой [2 + 2]. При этом ключевой стадией синтеза является гликозилирование дисахаридного акцептора (IX) производным ( $\alpha$ 1–3)-маннобиозы. Исходным соединением для получения ( $\alpha$ 1–3)-связанного диманнозидного блока служил известный 4,6-ди-*O*-бензильный тиогликозид (XVII) [16], который селективно бензоилировали по O2 через промежуточное образование циклического 2,3-ортобензоата (схема 4). Взаимодействие полученного монобензоата (XVIII) с бромидом (XV) в присутствии трифлата серебра приводит с выходом 64% к дисахаридному тиогликозиду (XIX), который непосредственно может быть использован в последующем гликозилировании. Слабополюсное

положение сигнала H5 ( $\delta$  4.50) тетра-*O*-бензоилированного невосстанавливающего остатка маннозы (будущий остаток E) в спектре  $^1\text{H}$ -ЯМР соединения (XIX) свидетельствует о его  $\alpha$ -конфигурации. Гликозилированием дисахаридного акцептора (IX) тиогликозидом (XIX) в присутствии NIS и TfOH с выходом 65% получен целевой тетрасахарид (XX).  $\alpha$ -Конфигурация образовавшейся гликозидной связи подтверждалась химическим сдвигом сигнала H5 ( $\delta$  4.15) моносахаридного остатка C в спектре  $^1\text{H}$ -ЯМР соединения (XX).

Для синтеза пентасахарида (III) диол (XVII) подвергался бензоилированию с получением дибензоата (XXI), который является предпочтительным 2,3-бис-гликозилированным остатком маннозы в пентасахариде (схема 5). Взаимодействием тиогликозида (XIX) с дисахаридным акцептором (IX) в присутствии NIS и TfOH с выходом 95% получено трисахаридное производное (XXII),  $\alpha$ -конфигурация конечной маннозидной связи в котором подтверждается величиной химического сдвига H5 ( $\delta$  4.10) остатка C в спектре  $^1\text{H}$ -ЯМР. Последующее дебензоилирование соединения (XXII) приводит к диолу (XXIII), бисгликозилированием которого бензобромманнозой (XV) с выходом 85% получен искомым защищенный пентасахарид (XXIV).

В защищенных олигосахаридах (XVI), (XX) и (XXIV) сначала проводилось удаление бензильных групп гидролизом, а затем бензоильные и *N*-трифторацетильная группы одновременно удалялись обработкой анионитом Amberlyst A-26 (OH<sup>-</sup>), в результате чего были получены целевые свободные олигосахариды (I)–(III) (схема 6). Аналогично, защищенное производное (VIII) было

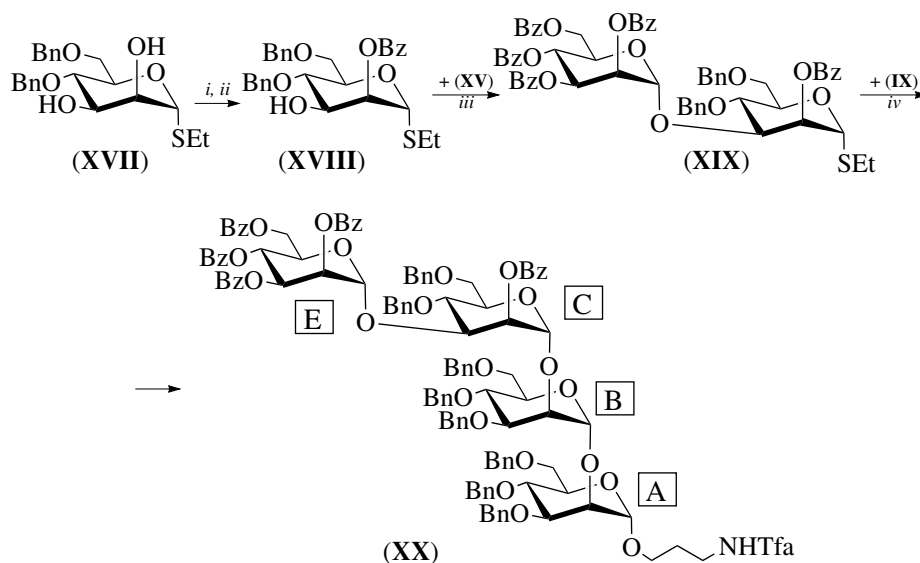


Схема 4. *i*)  $\text{PhC}(\text{OMe})_3$ , камфорсульфонокислота,  $\text{MeCN}$ ; *ii*) 80% водн.  $\text{AcOH}$ ; *iii*)  $\text{AgOTf}$ , MS 4Å,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; *iv*) NIS, TfOH, MS 4Å,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ .

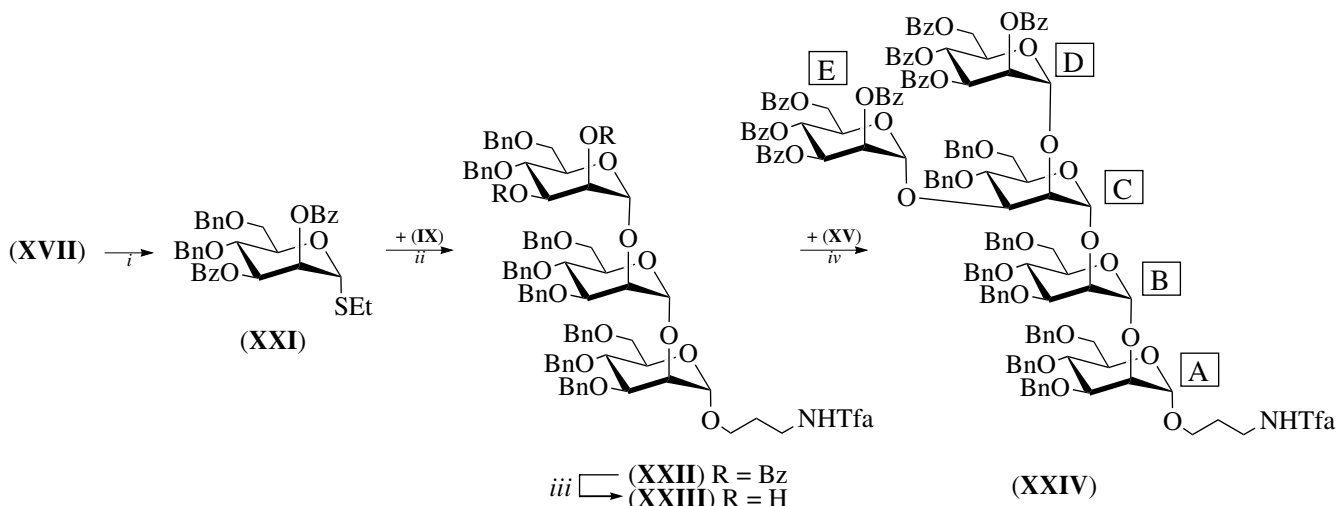


Схема 5. *i)* BzCl, Py; *ii)* NIS, TfOH, MS 4Å, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; *iii)* MeONa, MeOH; *iv)* AgOTf, MS 4Å, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>.

превращено в свободный 3-аминопропилгликозид (XXV), который использовался для получения модельного конъюгата с БСА.

Конъюгацию производного (XXV) с БСА проводили с использованием скваратного метода [17—19]. На первой стадии взаимодействием олигосахарида (XXV) с диэтилскваратом (XXVI) при pH 7 был получен монозамещенный аддукт (XXVII) (схема 7). Спектр <sup>1</sup>H-ЯМР углеводной части аддукта (XXVII) практически не отличался от спектра исходного дисахарида (XXV) за исключением сигнала H1 остатка маннозы А, который проявлялся в виде двух близко расположенных синглетов половинной интенсивности, что связано, по-видимому, с изомерией винилогичной амидной группы в скваратном фрагменте [17, 19]. По этой же причине происходило удвоение сигналов пропильной группы спейсера и этоксильной группы. Последующая реакция производного (XXVII) со свободными аминогруппами БСА протекает при pH 9 и приводит к конъюгату (XXVIII). В тех же условиях пентасахарид (III) был превращен в моноамид (XXIX), взаимодействием которого с БСА получен конъюгат (XXX). По данным масс-спектрометрии MALDI-TOF [18] (рис. 2), конъюгаты (XXVIII) и (XXX) при начальном мольном соотношении олигосахарид–БСА, равном 20 : 1, содержали в среднем 20 олигосахаридных остатков (*n* = 20).

Таким образом, синтезированы 3-аминопропилгликозиды олигосахаридов, соответствующих трем типам боковых цепей маннопротеина клеточной стенки *S. albicans*. С использованием скваратного метода получены конъюгаты дисахарида (XXV) и пентасахарида (III) с БСА.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Методики очистки растворителей аналогичны описанным в работе [20]. TfOH, камфорсульфо-

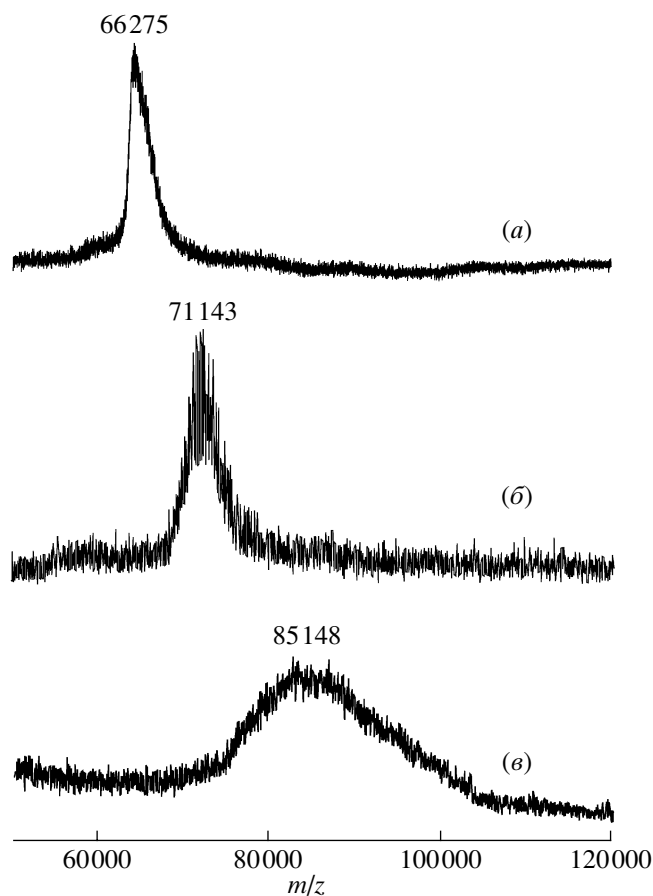


Рис. 2. Спектры MALDI-TOF исходного БСА (а) и конъюгатов (XXVIII) (б) и (XXX) (в).

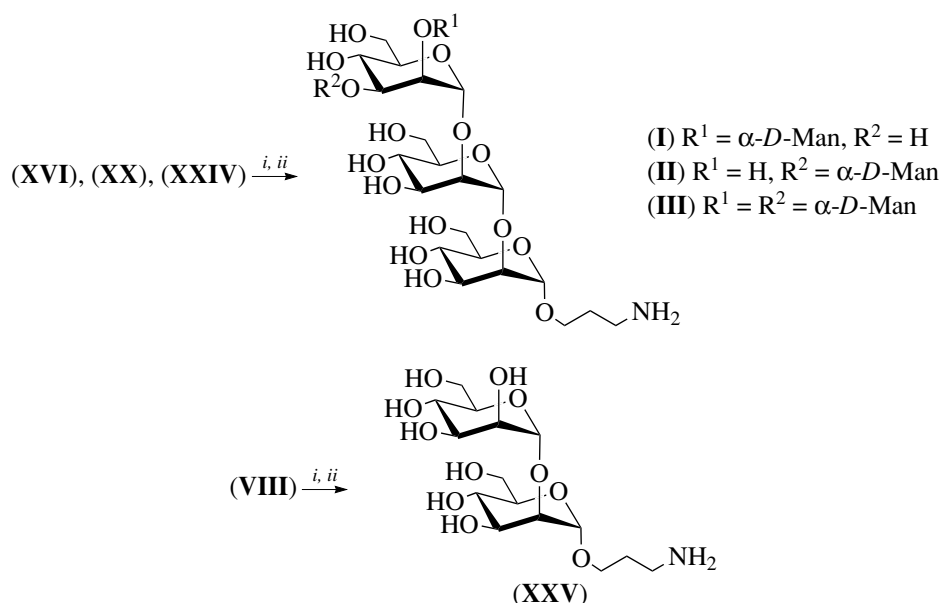


Схема 6. *i*)  $\text{H}_2$ ,  $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ ,  $\text{MeOH}$ ; *ii*) Amberlyst A-26 ( $\text{OH}^-$ ), вода.

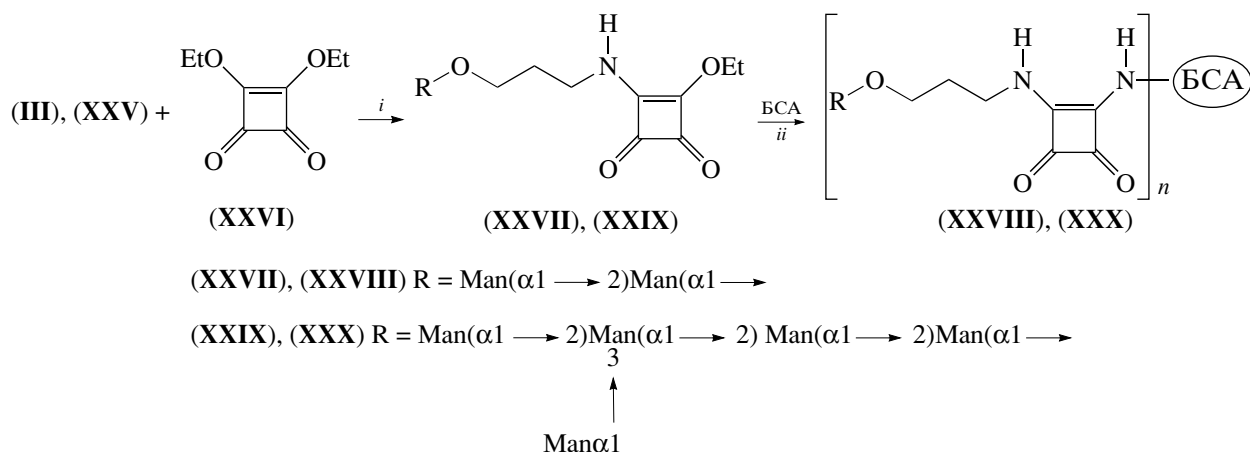


Схема 7. *i*)  $\text{Et}_3\text{N}$ , 50% водный этанол; *ii*) боратный буфер, pH 9.0.

кислота, этилортобензоат, диэтилсварат (Fluka), NIS (Acros) и  $\text{AgOTf}$  (Merck) использовались без дополнительной очистки. Спектры  $^1\text{H}$ - и  $^{13}\text{C}$ -ЯМР регистрировались на приборах Bruker DRX-500 и Bruker AM-300 при  $25^\circ\text{C}$  в  $\text{CDCl}_3$  для защищенных производных и в  $\text{D}_2\text{O}$  для свободных олигосахаридов. Отнесение сигналов в спектрах ЯМР проводили с использованием методик двумерной корреляционной спектроскопии COSY, TOCSY, ROESY и HSQC. Обозначения моносахаридных остатков, используемые при описании спектров ЯМР, приведены на схемах. Спектры MALDI-TOF регистрировались на приборе Bruker Ultraflex с двойным времяпролетным анализатором, в линейном режиме, с регистрацией положительных ионов. Источник – с панорамной задержкой экстракции

ионов; ускоряющее напряжение – 20 кВ. Использованная матрица – 2,5-дигидроксibenзойная кислота. Оптическое вращение измеряли на приборе Поляриметр универсальный ПУ-7 при  $18\text{--}22^\circ\text{C}$  для растворов в хлороформе в случае защищенных и частично защищенных производных и в воде – для свободных олигосахаридов при  $c = 1\%$ . ТСХ проводили на пластинках с силикагелем Kieselgel 60 (Merck), вещества обнаруживали обработкой 10% (по объему) раствором ортофосфорной кислоты в этаноле с последующим нагреванием при  $\sim 150^\circ\text{C}$ . Колоночную хроматографию осуществляли на силикагеле Silica gel 60 (0.040–0.063 мм) (Merck); гель-хроматографию – на колонке с гелем TSK HW-40(S) ( $1.5 \times 90$  см) в 0.1 М уксусной кислоте, элюат анализировали с помощью

проточного рефрактометра Кнауер 88 00. Молекулярные сита 4Å (Fluka) активировали перед реакцией нагреванием при 200°C в течение 2 ч в вакууме масляного насоса. Все реакции гликозилирования проводили в абсолютных растворителях в атмосфере сухого аргона.

**Общая методика гликозилирования тиогликозидами (методика А).** К раствору гликозилакцептора и гликозилдона в хлористом метилена прибавляли MS 4Å, перемешивали 30 мин при комнатной температуре, охлаждали смесь до -10...-15°C, прибавляли NIS, через 10 мин понижали температуру до -30...-35°C и прибавляли TfOH. Далее температуру реакционной смеси поддерживали в пределах -25°C...-30°C. После того как по данным ТСХ исходный гликозилакцептор полностью прореагировал, реакционную смесь нейтрализовали пиридином, разбавляли хлороформом и фильтровали через целит. Фильтрат промывали 1 М раствором тиосульфата натрия, водой, растворитель упаривали и остаток 2 раза соупаривали с толуолом.

**Общая методика дезацелирования (методика Б).** К раствору исходного соединения в абс. метаноле прибавляли 1 М раствор метилата натрия в MeOH в таком количестве, чтобы конечная концентрация MeONa составляла 0.05–0.1 М. По окончании дезацелирования (ТСХ) к реакционной смеси прибавляли катионит КУ-2 (H<sup>+</sup>) до нейтральной реакции, катионит отфильтровывали, промывали MeOH и фильтрат упаривали.

**Общая методика гликозилирования бензобромманнозой (методика В).** К раствору гликозилакцептора и бензобромманнозы в хлористом метилена прибавляли MS 4Å, перемешивали 30 мин при комнатной температуре, охлаждали до -40...-50°C и прибавляли AgOTf. Полученную смесь перемешивали при -25...-30°C до исчезновения (ТСХ) исходного гликозилакцептора, нейтрализовали пиридином, разбавляли хлороформом и фильтровали через целит. Фильтрат промывали 1 М раствором тиосульфата натрия, водой, растворитель упаривали и остаток 2 раза соупаривали с толуолом.

**(3-Трифторацетамидопропил)-2-О-ацетил-3,4,6-три-О-бензил-α-D-маннопиранозид (VI).** 3-Трифторацетамидопропанол (V) (3.45 г, 20.2 ммоль) гликозилировали тиогликозидом (IV) (5.40 г, 10.1 ммоль) в 30 мл хлористого метилена в присутствии 6 г MS 4Å, 4.55 г (20.2 ммоль) NIS и 33 мкл (0.37 ммоль) TfOH согласно методике А. Колоночной хроматографией (толуол–этилацетат, 8 : 1) выделяли 4.10 г (62%) маннозида (VI) в виде сиропа,  $R_f$  0.57 (толуол–этилацетат 3 : 2),  $[\alpha]_D = +40.4^\circ$ . Спектр <sup>1</sup>H-ЯМР: 2.18 (3 Н, с, CH<sub>3</sub>CO), 4.85 (1 Н, уш. с, H1), 5.35 (1 Н, уш. с, H2), 3.94 (1 Н, дд,  $J_{3,2}$  3.3 Гц,  $J_{3,4}$  8.8 Гц, H3), 3.83 (H4), 3.79 (H5), 3.74 (2 H6), 4.45–4.90 (6 Н, кластер д, 3 PhCH<sub>2</sub>), 7.10–7.42 (15 Н, м, аром.). В спектре также содер-

жались сигналы протонов 3-трифторацетамидопропильного агликона: 1.89 (2 Н, м, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.42; 3.51 (2 Н, 2 м, CH<sub>2</sub>N), 3.57; 3.83 (2 Н, 2 м, CH<sub>2</sub>O)<sup>1</sup>. Спектр <sup>13</sup>C-ЯМР: 21.0 (CH<sub>3</sub>CO), 170.4 (CH<sub>3</sub>CO), 98.0 (C1), 68.6 (C2), 78.2 (C3), 74.2 (C4), 71.9 (C5), 69.0 (C6). В спектре также присутствовали сигналы 3-трифторацетамидопропильного агликона: 28.2 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 38.0 (CH<sub>2</sub>N), 66.2 (CH<sub>2</sub>O)<sup>2</sup>. Найдено, %: С 64.80; Н 6.45. C<sub>34</sub>H<sub>38</sub>O<sub>7</sub>F<sub>3</sub>N. Вычислено, %: С 64.86; Н 6.08.

**(3-Трифторацетамидопропил)-3,4,6-три-О-бензил-α-D-маннопиранозид (VII).** Маннозид (VI) (4.10 г, 6.3 ммоль) дезацетилировали 3 мл 1 М MeONa в 30 мл MeOH по методике Б. Колоночной хроматографией (толуол–этилацетат, 3 : 1) выделяли 2.40 г (61%) акцептора (VII), аморфное вещество,  $R_f$  0.29 (толуол–этилацетат, 3 : 1),  $[\alpha]_D +40.6^\circ$ . Спектр <sup>1</sup>H-ЯМР: 3.64 (3 Н, м, H5, 2 H6), 3.74 (2 Н, м, H3, H4), 3.93 (1 Н, уш. с, H2), 4.42–4.78 (6 Н, кластер д, 3 PhCH<sub>2</sub>), 4.78 (1 Н, уш. с, H1), 7.08–7.32 (15 Н, м, аром.).

**(3-Трифторацетамидопропил)-2-О-ацетил-3,4,6-три-О-бензил-α-D-маннопиранозид (1 → 2)-3,4,6-три-О-бензил-α-D-маннопиранозид (VIII).** Акцептор (VII) (2.40 г, 3.98 ммоль) гликозилировали 3.20 г (5.97 ммоль) тиогликозида (IV) в 25 мл хлористого метилена в присутствии 4.50 г MS 4Å, 2.69 г (12.0 ммоль) NIS и 180 мкл (1.99 ммоль) TfOH по методике А. Колоночной хроматографией (толуол–этилацетат, 10 : 1) выделяли 3.50 г (82%) маннобиозида (VIII) в виде сиропа,  $R_f$  0.55 (толуол–этилацетат, 3 : 1),  $[\alpha]_D = +20.5^\circ$ . Спектр <sup>1</sup>H-ЯМР: 2.17 (3 Н, с, CH<sub>3</sub>CO), 4.92 (1 Н, уш. с, H1-A), 5.08 (1 Н, уш. с, H1-B), 5.55 (1 Н, уш. с, H2-B), 3.99 (H3-B), 3.80 (H4-B), 4.00 (H5-B), 3.72; 3.78 (2 H6-B), 4.45–4.92 (12 Н, кластер д, 6 PhCH<sub>2</sub>), 7.18–7.40 (30 Н, м, аром.). Спектр <sup>13</sup>C-ЯМР: 21.1 (CH<sub>3</sub>CO), 170.0 (CH<sub>3</sub>CO), 98.9 (C1-A), 99.6 (C1-B), 68.7 (C2-B), 78.0 (C3-B), 74.3 (C4-B), 71.9 (C5-B), 69.5 (C6-B). Найдено, %: С 67.68; Н 6.19. C<sub>61</sub>H<sub>66</sub>O<sub>13</sub>F<sub>3</sub>N. Вычислено, %: С 67.95; Н 6.17.

**(3-Трифторацетамидопропил)-3,4,6-три-О-бензил-α-D-маннопиранозид (1 → 2)-3,4,6-три-О-бензил-α-D-маннопиранозид (IX).** Диманнозид (VIII) (1.50 г, 1.39 ммоль) дезацетилировали 0.5 мл 1 М MeONa в 5 мл MeOH согласно методике Б. После колоночной хроматографии (толуол–этилацетат, 5 : 1) получили 955 мг (66%) акцептора (VII), сироп,  $R_f$  0.44 (толуол–этилацетат, 3 : 1),  $[\alpha]_D +25.6^\circ$ .

<sup>1</sup> Аналогичные сигналы присутствовали, с незначительными изменениями хим. сдвигов (±0.1 м.д.), в спектрах всех описанных ниже защищенных олигосахаридов. Поэтому в дальнейшем при описании спектров <sup>1</sup>H-ЯМР сигналы 3-трифторацетамидопропильной группы не приводятся.

<sup>2</sup> Аналогичные сигналы (±0.5 м.д.) присутствовали в спектрах всех описанных ниже защищенных олигосахаридов. В дальнейшем при описании спектров <sup>13</sup>C-ЯМР сигналы 3-трифторацетамидопропильной группы не приводятся.

Спектр  $^1\text{H}$ -ЯМР: 4.79 (1 H, уш. с, H1-A), 4.94 (1 H, уш. с, H1-B), 4.00 (1 H, уш. с, H2-B), 3.74 (H3-B), 3.66 (H4-B), 3.83 (H5-B), 3.62 (2 H6-B), 4.36–4.74 (12 H, кластер д, 6  $\text{PhCH}_2$ ), 7.05–7.27 (30 H, м, аром.). Спектр  $^{13}\text{C}$ -ЯМР: 98.7 (C1-A), 101.6 (C1-B), 68.1 (C2-B), 79.3 (C3-B), 74.2 (C4-B), 71.8 (C5-B), 69.4 (C6-B).

**(3-Трифторацетамидопропил)-2-О-ацетил-3,4,6-три-О-бензил- $\alpha$ -D-маннопиранозил- и - $\beta$ -D-маннопиранозил-(1  $\rightarrow$  2)-3,4,6-три-О-бензил- $\alpha$ -D-маннопиранозил-(1  $\rightarrow$  2)-3,4,6-три-О-бензил- $\alpha$ -D-маннопиранозиды (X) и (XI).** Реакцию гликозилирования 65 мг (0.062 ммоль) акцептора (IX) 57 мг (0.106 ммоль) тиогликозида (IV) в 6 мл хлористого метилена в присутствии 50 мг MS 4Å, 48 мг (0.214 ммоль) NIS и 3.9 мкл (0.044 ммоль) TfOH проводили согласно методике А. Колоночной хроматографией (толуол–этилацетат, 10 : 1) выделяли 27 мг (28%)  $\alpha$ -изомера (X) и 40 мг (42%)  $\beta$ -изомера (XI). Соединение (X), сироп,  $R_f$  0.58 (толуол–этилацетат, 4 : 1),  $[\alpha]_D = +32.2^\circ$ . Спектр  $^1\text{H}$ -ЯМР: 2.15 (3 H, с,  $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 4.95 (1 H, уш. с, H1-A), 5.20 (1 H, уш. с, H1-B), 5.07 (1 H, уш. с, H1-C), 5.55 (1 H, уш. с, H2-C), 4.02 (H3-C), 3.93 (H4-C), 3.96 (H5-C), 3.72; 3.78 (2 H6-C), 4.33–4.89 (18 H, кластер д, 9  $\text{PhCH}_2$ ), 7.15–7.39 (45 H, м, аром.). Спектр  $^{13}\text{C}$ -ЯМР: 21.0 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 170.5 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 99.0 (C1-A), 100.7 (C1-B), 99.3 (C1-C), 68.8 (C2-C), 78.0 (C3-C), 74.2 (C4-C), 72.2 (C5-C), 69.9 (C6-C). Соединение (XI), сироп,  $R_f$  0.40 (толуол–этилацетат, 4 : 1),  $[\alpha]_D -3.1^\circ$ . Спектр  $^1\text{H}$ -ЯМР: 2.11 (3 H, с,  $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 4.99 (1 H, уш. с, H1-A), 5.15 (1 H, д,  $J_{1,2}$  3.1 Гц, H1-B), 4.75 (1 H, уш. с, H1-C), 5.53 (1 H, д,  $J_{2,3}$  2.3 Гц, H2-C), 3.44 (1 H, дд,  $J_{3,4}$  9.2 Гц, H3-C), 3.78 (H4-C), 3.33 (1 H, м, H5-C), 3.69 (2 H, H6-C), 4.23–4.90 (18 H, кластер д, 9  $\text{PhCH}_2$ ), 7.13–7.44 (45 H, м, аром.). Спектр  $^{13}\text{C}$ -ЯМР: 21.0 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 170.5 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 99.2 (C1-A), 100.3 (C1-B), 96.1 (C1-C), 68.1 (C2-C), 80.1 (C3-C), 74.4 (C4-C), 75.4 (C5-C), 69.2 (C6-C). Найдено, %: C 69.37; H 6.35.  $\text{C}_{88}\text{H}_{94}\text{O}_{18}\text{F}_3\text{N}$ . Вычислено, %: C 69.97; H 6.27.

**Этил-3,4,6-три-О-бензил-2-О-бензоил-1-тио- $\alpha$ -D-маннопиранозид (XII).** Раствор 200 мг (0.373 ммоль) тиогликозида (IV) в 4 мл MeOH обрабатывали 0.2 мл 1 M MeONa согласно методике Б. К раствору полученного моногидроксильного производного в 4 мл пиридина прибавляли 0.13 мл (1.11 ммоль) бензоилхлорида. По окончании реакции бензоилирования реакцию смесь выливали в ледяную воду, из которой продукт экстрагировали 100 мл хлороформа. Экстракт промывали насыщенным раствором гидрокарбоната натрия, водой, растворитель упаривали и остаток 2 раза соупаривали с толуолом. Из остатка колоночной хроматографией (толуол–этилацетат, 25 : 1) выделяли 200 мг (90%) бензоата (XII) в виде сиропа,  $R_f$  0.86 (толуол–этилацетат, 4 : 1),  $[\alpha]_D +27.3^\circ$ . Спектр  $^1\text{H}$ -ЯМР: 1.29 (3 H, т,  $J$  7.5 Гц,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 2.65 (2 H, м,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 3.75 (1 H, д,  $J_{6,6'}$  10.8 Гц, H6),

3.92 (1 H, дд,  $J_{6,5}$  3.8 Гц, H6'), 4.02 (1 H, дд,  $J_{3,2}$  3.0 Гц,  $J_{3,4}$  9.2 Гц, H3), 4.13 (1 H, т,  $J_{4,5}$  9.7 Гц, H4), 4.49–4.89 (6 H, кластер д, 3  $\text{PhCH}_2$ ), 5.43 (1 H, уш. с, H1), 5.69 (1 H, уш. с, H2), 7.19–8.17 (20 H, м, аром.).

**(3-Трифторацетамидопропил)-3,4,6-три-О-бензил-2-О-бензоил- $\alpha$ -D-маннопиранозил-(1  $\rightarrow$  2)-3,4,6-три-О-бензил- $\alpha$ -D-маннопиранозил-(1  $\rightarrow$  2)-3,4,6-три-О-бензил- $\alpha$ -D-маннопиранозид (XIII).** Акцептор (IX) (1.75 г, 1.69 ммоль) гликозилировали 1.50 г (2.51 ммоль) тиогликозида (XII) в 20 мл хлористого метилена в присутствии 3 г MS 4Å, 1.12 г (4.98 ммоль) NIS и 60 мкл (0.68 ммоль) TfOH по методике А. После колоночной хроматографии (толуол–этилацетат, 15 : 1) получили 1.70 г (64%) триманнозида (XIII) в виде сиропа,  $R_f$  0.43 (толуол–этилацетат, 6 : 1)  $[\alpha]_D +16.3^\circ$ . Спектр  $^1\text{H}$ -ЯМР: 4.98 (1 H, д,  $J_{1,2}$  1.5 Гц, H1-A), 5.27 (1 H, д,  $J_{1,2}$  1.5 Гц, H1-B), 5.16 (1 H, д,  $J_{1,2}$  1.6 Гц, H1-C), 5.80 (1 H, уш. с, H2-C), 4.15 (H3-C), 4.15 (H4-C), 4.03 (H5-C), 3.76; 3.82 (2 H6-C), 4.42–4.93 (18 H, кластер д, 9  $\text{PhCH}_2$ ), 7.10–8.17 (50 H, м, аром.). Спектр  $^{13}\text{C}$ -ЯМР: 99.1 (C1-A), 100.8 (C1-B), 99.5 (C1-C), 69.1 (C2-C), 78.0 (C3-C), 74.4 (C4-C), 72.3 (C5-C), 70.0 (C6-C), 165.5 (PhCO). Найдено, %: C 71.90; H 6.38.  $\text{C}_{93}\text{H}_{96}\text{O}_{18}\text{F}_3\text{N}$ . Вычислено, %: C 71.02; H 6.15.

**(3-Трифторацетамидопропил)-3,4,6-три-О-бензил- $\alpha$ -D-маннопиранозил-(1  $\rightarrow$  2)-3,4,6-три-О-бензил- $\alpha$ -D-маннопиранозил-(1  $\rightarrow$  2)-3,4,6-три-О-бензил- $\alpha$ -D-маннопиранозид (XIV).** Раствор 1.65 г (1.05 ммоль) триманнозида (XIII) в 20 мл MeOH обрабатывали 1.0 мл 1 M MeONa по методике Б. Колоночной хроматографией (толуол–этилацетат, 10 : 1) выделяли 950 мг (62%) акцептора (XIV) в виде белой пены,  $R_f$  0.50 (толуол–этилацетат, 4 : 1),  $[\alpha]_D = +33.4^\circ$ . Спектр  $^1\text{H}$ -ЯМР: 4.76 (1 H, д,  $J_{1,2}$  1.4 Гц, H1-A), 5.04 (1 H, д,  $J_{1,2}$  1.2 Гц, H1-B), 4.91 (1 H, д,  $J_{1,2}$  1.5 Гц, H1-C), 3.95 (H2-C), 3.76 (1 H, дд,  $J_{3,2}$  2.9 Гц,  $J_{3,4}$  9.1 Гц, H3-C), 3.53 (H4-C), 3.78 (H5-C), 3.46 (H6-C), 4.31–4.70 (18 H, кластер д, 9  $\text{PhCH}_2$ ), 7.00–7.25 (45 H, м, аром.). Спектр  $^{13}\text{C}$ -ЯМР: 98.6 (C1-A), 100.6 (C1-B), 101.5 (C1-C), 68.1 (C2-C), 79.0 (C3-C), 74.8 (C4-C), 71.7 (C5-C), 69.1 (C6-C). Найдено, %: C 69.58; H 6.15.  $\text{C}_{86}\text{H}_{92}\text{O}_{17}\text{F}_3\text{N}$ . Вычислено, %: C 70.33; H 6.31.

**(3-Трифторацетамидопропил)-2,3,4,6-тетра-О-бензоил- $\alpha$ -D-маннопиранозил-(1  $\rightarrow$  2)-3,4,6-три-О-бензил- $\alpha$ -D-маннопиранозил-(1  $\rightarrow$  2)-3,4,6-три-О-бензил- $\alpha$ -D-маннопиранозил-(1  $\rightarrow$  2)-3,4,6-три-О-бензил- $\alpha$ -D-маннопиранозид (XVI).** Акцептор (XIV) (157 мг, 0.107 ммоль) гликозилировали 106 мг (0.161 ммоль) бромида (XV) в 4 мл хлористого метилена в присутствии 50 мг MS 4Å и 47 мг (0.118 ммоль) AgOTf согласно методике В. Продукт выделяли колоночной хроматографией (толуол–этилацетат, 10 : 1). Получили 150 мг (68%) тетрасахарида (XVI) в виде сиропа,  $R_f$  0.58 (толуол–этилацетат, 4 : 1),  $[\alpha]_D +56.2^\circ$ . Спектр  $^1\text{H}$ -ЯМР: 5.03 (1 H, уш. с, H1-A), 5.29 (1 H, уш. с, H1-B),



5.40 (1 Н, уш. с, Н1-С), 5.19 (1 Н, уш. с, Н1-Д), 5.96 (1 Н, уш. с, Н2-Д), 6.07 (1 Н, дд,  $J_{2,3}$  3.3 Гц,  $J_{3,4}$  10.0 Гц, Н3-Д), 6.21 (1 Н, т, Н4-Д), 4.65 (Н5-Д), 4.32; 4.57 (2 Н6-Д), 4.47–5.01 (18 Н, кластер д, 9 PhCH<sub>2</sub>), 7.10–8.16 (65 Н, м, аром.). Спектр <sup>13</sup>С-ЯМР: 99.2 (С1-А), 101.1 (С1-В), 100.5 (С1-С), 99.0 (С1-Д), 70.6 (С2-Д), 70.2 (С3-Д), 66.9 (С4-Д), 69.5 (С5-Д), 62.5 (С6-Д), 165.1, 165.3, 165.5, 166.1 (4 PhCO). Найдено, %: С 70.25; Н 5.67; N 0.78. C<sub>120</sub>H<sub>118</sub>O<sub>26</sub>F<sub>3</sub>N. Вычислено, %: С 70.40; Н 5.81; N 0.68.

**Этил-4,6-ди-*O*-бензил-2-*O*-бензоил-1-тио- $\alpha$ -*D*-маннопиранозид (XVIII).** К раствору 2.4 г (5.9 ммоль) диола (XVII) в 15 мл ацетонитрила прибавляли 3.2 мл (18.8 ммоль) метилортобензоата и каталитическое количество камфорсульфокислоты. Смесь выдерживали 30 мин, затем прибавляли 80% уксусную кислоту. Через 10 мин реакцию смесь разбавляли хлороформом, промывали насыщенным раствором гидрокарбоната натрия и водой. Растворитель упаривали, из остатка колоночной хроматографией (толуол–этилацетат, 5 : 1) выделяли 1.53 г (51%) соединения (XVIII),  $[\alpha]_D = +46.3^\circ$ . Спектр <sup>1</sup>Н-ЯМР: 1.26 (3 Н, т,  $J$  7.4 Гц, SCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.62 (2 Н, м, SCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.73 (1 Н, д,  $J_{6,6'}$  9.9 Гц, Н6), 3.89 (1 Н, дд,  $J_{6,5}$  3.6 Гц, Н6'), 4.01 (1 Н, т,  $J_{4,5}$  9.5 Гц, Н4), 4.14 (1 Н, дд,  $J_{3,2}$  2.9 Гц,  $J_{3,4}$  9.4 Гц, Н3), 4.17 (1 Н, м, Н5), 4.49; 4.60; 4.69; 4.82 (4 Н, 4 д,  $J$  11.0–12.0 Гц, 2 PhCH<sub>2</sub>), 5.39 (2 Н, уш. с, Н1, Н2), 7.20–8.04 (15 Н, м, аром.). Найдено, %: С 68.66; Н 6.49. C<sub>29</sub>H<sub>32</sub>O<sub>6</sub>S. Вычислено, %: С 68.48; Н 6.34.

**Этил-2,3,4,6-тетра-*O*-бензоил- $\alpha$ -*D*-маннопиранозил-(1  $\rightarrow$  3)-4,6-ди-*O*-бензил-2-*O*-бензоил-1-тио- $\alpha$ -*D*-маннопиранозид (XIX).** Тиогликозид (XVIII) (135 мг, 0.266 ммоль) гликозилировали 263 мг (0.40 ммоль) бромидом (XV) в 3 мл хлористого метилена в присутствии 300 мг MS 4Å и 102 мг (0.4 ммоль) AgOTf согласно методике В. Продукт выделяли колоночной хроматографией (петролейный эфир–этилацетат, 3 : 1). Получили 186 мг (64%) соединения (XIX), белая пена,  $[\alpha]_D -17.5^\circ$ . Спектр <sup>1</sup>Н-ЯМР: 1.31 (3 Н, т,  $J$  7.2 Гц, SCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.67 (2 Н, м, SCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.79 (1 Н, д,  $J_{6,6'}$  11.0 Гц, Н6-С), 3.99 (1 Н, дд,  $J_{6,5}$  3.2 Гц, Н6'-С), 4.29 (1 Н, м, Н5-С), 4.35 (1 Н, т,  $J_{4,5}$  9.2 Гц, Н4-С), 4.38 (2 Н, м, Н3-С, Н6-Е), 4.50 (1 Н, м, Н5-Е), 4.57; 4.73; 4.77; 5.02 (4 Н, 4 д,  $J$  11.5–12.0 Гц, 2 PhCH<sub>2</sub>), 4.60 (1 Н, дд, Н6'-Е), 5.47 (1 Н, уш. с, Н1-Е), 5.52 (1 Н, уш. с, Н1-С), 5.70 (1 Н, уш. с, Н2-С), 5.80 (1 Н, уш. с, Н2-Е), 5.82 (1 Н, дд,  $J_{3,2}$  2.8 Гц,  $J_{3,4}$  10.1 Гц, Н3-Е), 6.09 (1 Н, т,  $J_{4,5}$  9.8 Гц, Н4-Е), 7.17–8.25 (35 Н, м, аром.). Спектр <sup>13</sup>С-ЯМР: 14.9 (SCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 25.7 (SCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 82.3 (С1-С), 74.2 (С2-С), 79.2 (С3-С), 75.0 (С4-С), 72.1 (С5-С), 68.8 (С6-С), 99.7 (С1-Е), 70.2 (С2-Е), 70.3 (С3-Е), 66.3 (С4-Е), 69.6 (С5-Е), 62.7 (С6-Е), 165.1, 165.4, 166.0, 166.1 (5 PhCO). Найдено, %: С 69.38; Н 5.59. C<sub>63</sub>H<sub>58</sub>O<sub>15</sub>S. Вычислено, %: С 69.60; Н 5.38.

**(3-Трифторацетидапропил)-2,3,4,6-тетра-*O*-бензоил- $\alpha$ -*D*-маннопиранозил-(1  $\rightarrow$  3)-4,6-ди-*O*-бензил-2-*O*-бензоил- $\alpha$ -*D*-маннопиранозил-(1  $\rightarrow$  2)-3,4,6-три-*O*-бензил- $\alpha$ -*D*-маннопиранозид (XX).** Акцептор (IX) (84 мг, 0.081 ммоль) гликозилировали 106 мг (0.098 ммоль) тиогликозида (XIX) в 3 мл хлористого метилена в присутствии 350 мг MS 4Å, 44 мг (0.0196 ммоль) NIS и 2.9 мкл (0.032 ммоль) TfOH по методике А. Продукт выделяли колоночной хроматографией (толуол–этилацетат, 5 : 1). Получили 109 мг (65%) соединения (XX),  $[\alpha]_D +0.45^\circ$ . Спектр <sup>1</sup>Н-ЯМР: 4.93 (1 Н, уш. с, Н1-А), 5.24 (1 Н, уш. с, Н1-В), 5.18 (1 Н, уш. с, Н1-С), 5.72 (1 Н, уш. с, Н2-С), 4.49 (Н3-С), 4.35 (1 Н, т,  $J$  9.6 Гц, Н4-С), 4.15 (Н5-С), 3.62 (Н6-С), 3.83 (1 Н, дд,  $J_{6,6'}$  11.0 Гц,  $J_{6,5}$  3.2 Гц, Н6'-С), 5.42 (1 Н, уш. с, Н1-Е), 4.41–5.04 (16 Н, кластер д, 8 PhCH<sub>2</sub>), 7.00–8.25 (65 Н, м, аром.). Спектр <sup>13</sup>С-ЯМР: 99.0 (С1-А), 100.8 (С1-В), 99.8 (С1-Е), 99.3 (С1-С), 72.3 (С2-С), 78.9 (С3-С), 74.5 (С4-С), 72.2 (С5-С), 68.9 (С6-С), 165.1, 165.6, 165.8 (5 PhCO). Найдено, %: С 70.34; Н 5.83; N 0.66. C<sub>120</sub>H<sub>116</sub>O<sub>27</sub>F<sub>3</sub>N. Вычислено, %: С 69.93; Н 5.67; N 0.68.

**Этил-4,6-ди-*O*-бензил-2,3-ди-*O*-бензоил-1-тио- $\alpha$ -*D*-маннопиранозид (XXI).** К раствору 352 мг (0.87 ммоль) диола (XVII) в 4 мл пиридина прибавляли 0.61 мл (5.2 ммоль) бензоилхлорида. Реакционную смесь перемешивали 50 мин при комнатной температуре, разбавляли хлороформом, промывали насыщенным раствором гидрокарбоната натрия и водой, упаривали и 2 раза соупаривали с толуолом. Продукт выделяли колоночной хроматографией (толуол–этилацетат, 10 : 1). Получили 458 мг (86%) дибензоата,  $[\alpha]_D -16.6^\circ$ . Спектр <sup>1</sup>Н-ЯМР: 1.34 (3 Н, т,  $J$  7.3 Гц, SCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.70 (2 Н, м, SCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.80 (1 Н, д,  $J_{6,6'}$  9.9 Гц, Н6), 4.01 (1 Н, дд,  $J_{6,5}$  9.9 Гц, Н6'), 4.38 (1 Н, м, Н5), 4.43 (1 Н, т,  $J_{4,5}$  9.7 Гц, Н4), 4.57 (2 Н, д,  $J$  11.8 Гц, PhCH<sub>2</sub>), 4.68 (1 Н, д,  $J$  10.9 Гц, PhCH<sub>2</sub>), 4.80 (1 Н, д,  $J$  11.9 Гц, PhCH<sub>2</sub>), 5.51 (1 Н, уш. с, Н1), 5.70 (1 Н, дд,  $J_{3,2}$  3.1 Гц,  $J_{3,4}$  8.5 Гц, Н3), 5.74 (1 Н, уш. с, Н2), 7.07–8.22 (20 Н, м, аром.).

**(3-Трифторацетидапропил)-4,6-ди-*O*-бензил-2,3-ди-*O*-бензоил- $\alpha$ -*D*-маннопиранозил-(1  $\rightarrow$  2)-3,4,6-три-*O*-бензил- $\alpha$ -*D*-маннопиранозид (XXII).** Реакцию гликозилирования 122 мг (0.118 ммоль) акцептора (IX) тиогликозидом (XXI) (108 мг, 0.176 ммоль) проводили в 3 мл хлористого метилена в присутствии 250 мг MS 4Å, 79 мг (0.35 ммоль) NIS и 3 мкл (0.035 ммоль) TfOH согласно методике А. Колоночной хроматографией (толуол–этилацетат, 5 : 1) выделяли 177 мг (95%) производного (XXII),  $[\alpha]_D +8.5^\circ$ . Спектр <sup>1</sup>Н-ЯМР: 4.96 (1 Н, д,  $J_{1,2}$  1.7 Гц, Н1-А), 5.23 (1 Н, д,  $J_{1,2}$  1.6 Гц, Н1-В), 5.17 (1 Н, д,  $J_{1,2}$  1.7 Гц, Н1-С), 5.82 (1 Н, дд,  $J_{2,3}$  3.2 Гц, Н2-С), 5.84 (1 Н, дд,  $J_{3,4}$  9.2 Гц, Н3-С), 4.35 (1 Н, т, Н4-С), 4.10 (Н5-С), 3.58 (1 Н, дд,  $J_{6,5}$  1.4 Гц,

$J_{6,6}$  11.0 Гц, H6-C), 3.78 (1 H, дд,  $J_{6,5}$  3.2 Гц, H6'-C), 4.38–4.89 (16 H, кластер д, 8 PhCH<sub>2</sub>), 7.07–8.10 (50 H, м, аром.). Спектр <sup>13</sup>C-ЯМР: 99.0 (C1-A), 100.7 (C1-B), 99.4 (C1-C), 70.8 (C2-C), 72.5 (C3-C), 73.2 (C4-C), 72.1 (C5-C), 68.8 (C6-C). Найдено, %: C 69.82; H 6.32; N 0.88. C<sub>93</sub>H<sub>94</sub>O<sub>19</sub>F<sub>3</sub>N. Вычислено, %: C 70.40; H 5.97; N 0.88.

**(3-Трифторацетиламинопропил)-4,6-ди-*O*-бензил- $\alpha$ -*D*-маннопиранозил-(1  $\rightarrow$  2)-3,4,6-три-*O*-бензил- $\alpha$ -*D*-маннопиранозил-(1  $\rightarrow$  2)-3,4,6-три-*O*-бензил- $\alpha$ -*D*-маннопиранозид (XXIII).** В производном (XXII) (177 мг, 0.112 ммоль) удаляли бензоильные группы действием 0.2 мл 1 М MeONa в 2 мл MeOH по методике Б. Колоночной хроматографией (толуол–этилацетат, 3 : 1) выделяли 100 мг (61%) диола (XXIII),  $[\alpha]_D +34.7^\circ$ . Спектр <sup>1</sup>H-ЯМР: 4.85 (1 H, д,  $J_{1,2}$  1.6 Гц, H1-A), 5.12 (1 H, д,  $J_{1,2}$  1.5 Гц, H1-B), 5.09 (1 H, уш. с, H1-C), 3.90 (H2-C), 3.65 (H3-C), 4.24; 4.80 (16 H, кластер д, 8 PhCH<sub>2</sub>), 7.11–7.29 (40 H, м, аром.). Спектр <sup>13</sup>C-ЯМР: 98.7 (C1-A), 100.7 (C1-B), 101.7 (C1-C). Найдено, %: C 69.28; H 6.91; N 0.83. C<sub>79</sub>H<sub>86</sub>O<sub>17</sub>F<sub>3</sub>N. Вычислено, %: C 68.83; H 6.29; N 1.02.

**(3-Трифторацетиламинопропил)-2,3,4,6-тетра-*O*-бензоил- $\alpha$ -*D*-маннопиранозил-(1  $\rightarrow$  3)-[2,3,4,6-тетра-*O*-бензоил- $\alpha$ -*D*-маннопиранозил-(1  $\rightarrow$  2)]-4,6-ди-*O*-бензил- $\alpha$ -*D*-маннопиранозил-(1  $\rightarrow$  2)-3,4,6-три-*O*-бензил- $\alpha$ -*D*-маннопиранозил-(1  $\rightarrow$  2)-3,4,6-*O*-бензил- $\alpha$ -*D*-маннопиранозид (XXIV).** Диол (XXIII) (85 мг, 0.058 ммоль) гликозилировали бромидом (XV) (114 мг, 0.174 ммоль) в 4 мл хлористого метилена в присутствии 350 мг MS 4A и 53 мг (0.21 ммоль) AgOTf согласно методике В. Продукт выделяли колоночной хроматографией (толуол–этилацетат, 10 : 1). Получили 126 мг (85%) пентасахарида (XXIV),  $[\alpha]_D +5.4^\circ$ . Спектр <sup>1</sup>H-ЯМР: 4.96 (1 H, уш. с, H1-A), 5.18 (1 H, уш. с, H1-B), 5.61 (1 H, уш. с, H1-C), 5.07 (1 H, уш. с, H1-D), 5.88 (1 H, уш. с, H2-D), 6.12 (1 H, дд,  $J_{2,3}$  2.5 Гц,  $J_{3,4}$  10.3 Гц, H3-D), 6.31 (1 H, т,  $J_{4,5}$  10.3 Гц, H4-D), 4.97 (H5-D), 4.42; 4.70 (2 H6-D), 5.47 (1 H, уш. с, H1-E), 6.07 (1 H, уш. с, H2-E), 6.26 (1 H, дд,  $J_{2,3}$  2.3 Гц,  $J_{3,4}$  10.4 Гц, H3-E), 6.40 (1 H, т,  $J_{4,5}$  10.0 Гц, H4-E), 4.80 (H5-E), 4.75 (2 H6-E), 4.37–4.93 (16 H, кластер д, 8 PhCH<sub>2</sub>), 6.80–8.20 (80 H, м, аром.). Спектр <sup>13</sup>C-ЯМР: 99.0 (C1-A), 100.8 (C1-B), 99.4 (C1-C), 98.2 (C1-D), 70.8 (C2-D), 70.4 (C3-D), 66.4 (C4-D), 69.4 (C5-D), 62.7 (C6-D), 100.6 (C1-E), 70.7 (C2-E), 70.9 (C3-E), 66.3 (C4-E), 69.9 (C5-E), 62.6 (C6-E). Найдено, %: C 69.50; H 5.52; N 0.55. C<sub>147</sub>H<sub>138</sub>O<sub>35</sub>F<sub>3</sub>N. Вычислено, %: C 69.63; H 5.49; N 0.55.

**Общая методика удаления защитных групп (методика Г).** К раствору защищенного олигосахарида в метаноле прибавляли 20%-ный гидроксид палладия на угле (Aldrich) в количестве, равном массе деблокируемого олигоманнозида. Смесь перемешивали 16 ч в атмосфере водорода при комнатной температуре, фильтровали через

целит, катализатор тщательно промывали метанолом и объединенные фильтраты упаривали. Раствор остатка в воде обрабатывали анионитом Amberlyst A-26 (OH<sup>-</sup>) (Fluka) в течение 16 ч, смолу отделяли фильтрованием, фильтрат упаривали. Свободные олигосахарида (I)–(III) выделяли гель-хроматографией на колонке с TSK HW-40(S) в виде уксуснокислых солей и лиофилизировали из воды.

**3-Аминопропил- $\alpha$ -*D*-маннопиранозил-(1  $\rightarrow$  2)- $\alpha$ -*D*-маннопиранозил-(1  $\rightarrow$  2)- $\alpha$ -*D*-маннопиранозид (I).** Получен из защищенного тетрасахарида (XVI) согласно методике Г. Выход 87%,  $[\alpha]_D +74.3^\circ$ . Спектр <sup>1</sup>H-ЯМР: 5.30, 5.27 (2 H, 2 с, H1-B, H1-C), 5.09 (1 H, с, H1-A), 5.04 (1 H, с, H1-D), 4.10; 4.09 (2 H, 2 уш. с, H2-B, H2-C), 4.07 (1 H, 2 уш. с, H2-D), 3.95 (H2-A), 3.94 (H3-B, H3-C), 3.89 (H3-C), 3.84 (H3-D), 3.62–3.70 (H4-A, H4-B, H4-C, H4-D), 3.73–3.79 (H5-B, H5-C, H5-D), 3.61 (H5-A), 3.72–3.79 (H6-A, H6-B, H6-C, H6-D), 3.86–3.92 (H6'-A, H6'-B, H6'-C, H6'-D), 3.85, 3.59 (CH<sub>2</sub>O), 3.12 (2 H, м, CH<sub>2</sub>N), 1.97 (2 H, м, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>). Спектр <sup>13</sup>C-ЯМР: 103.4 (C1-D, 101.8 (x2) (C1-B, C1-C), 99.4 (C1-A), 80.1, 79.9, 79.7 (C2-A, C2-B, C2-C), 74.5, 74.4 (x2), 74.1 (C5-A, C5-B, C5-C, C5-D), 71.5 (C3-D), 71.4, 71.2 (x3) (C2-D, C3-A, C3-B, C3-C), 68.4, 68.3, 68.2, 68.0 (C4-A, C4-B, C4-C, C4-D), 62.2, 62.3, 62.4 (x2) (C6-A, C6-B, C6-C, C6-D), 66.2 (CH<sub>2</sub>O), 38.7 (CH<sub>2</sub>N), 27.8 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>).

**3-Аминопропил- $\alpha$ -*D*-маннопиранозил-(1  $\rightarrow$  3)- $\alpha$ -*D*-маннопиранозил-(1  $\rightarrow$  2)- $\alpha$ -*D*-маннопиранозид (II).** Удаление защитных групп в защищенном производном (XX) проводили согласно методике Г; в результате получили свободный тетрасахарид (II) с выходом 90%,  $[\alpha]_D = +57.2^\circ$ . Спектр <sup>1</sup>H-ЯМР: 5.26 (1 H, с, H1-B), 5.12 (1 H, с, H1-E), 5.07 (1 H, с, H1-A), 5.01 (1 H, с, H1-C), 4.20 (1 H, уш. с, H2-C), 4.09 (1 H, уш. с, H2-B), 4.05 (1 H, уш. с, H2-E), 3.93 (H2-A), 3.92 (H3-B, H3-C), 3.87 (H3-A), 3.86 (H3-E), 3.73 (H4-C), 3.66 (H4-A), 3.64 (H4-B), 3.62 (H4-E), 3.72–3.79 (H5-B, H5-C, H5-E), 3.58 (H5-A), 3.69–3.77 (H6-A, H6-B, H6-C, H6-E), 3.85–3.92 (H6'-A, H6'-B, H6'-C, H6'-E), 3.82; 3.57 (CH<sub>2</sub>O), 3.10 (2 H, м, CH<sub>2</sub>N), 1.97 (2 H, м, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>). Спектр <sup>13</sup>C-ЯМР: 103.3 (x2) (C1-C, C1-E), 101.9 (C1-B), 99.4 (C1-A), 80.0 (C2-A), 79.7 (C2-B), 79.1 (C3-C), 74.5 (x3) (C5-B, C5-C, C5-E), 74.1 (C5-A), 71.5, 71.3, 71.2 (x2) (C2-E, C3-A, C3-B, C3-E), 70.8 (C2-C), 68.3, 68.1 (x2) (C4-A, C4-B, C4-E), 67.4 (C4-C), 62.4, 62.3, 62.2 (x2) (C6-A, C6-B, C6-C, C6-E), 66.2 (CH<sub>2</sub>O), 38.6 (CH<sub>2</sub>N), 27.8 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>).

**3-Аминопропил- $\alpha$ -*D*-маннопиранозил-(1  $\rightarrow$  2)-[ $\alpha$ -*D*-маннопиранозил-(1  $\rightarrow$  3)]- $\alpha$ -*D*-маннопиранозил-(1  $\rightarrow$  2)- $\alpha$ -*D*-маннопиранозид (III)** получен из защищенного пентасахарида (XXIV) по методике Г. Выход 85%,  $[\alpha]_D +58.8^\circ$ . Спектр <sup>1</sup>H-ЯМР: 5.25 (1 H, с, H1-C),

5.23 (1 H, с, H1-B), 5.15 (1 H, с, H1-E), 5.10 (1 H, с, H1-D), 5.06 (1 H, с, H1-A), 4.22 (1 H, уш. с, H2-C), 4.07 (1 H, уш. с, H2-B), 4.03 (1 H, уш. с, H2-E), 3.98 (1 H, уш. с, H2-D), 3.92 (H2-A), 4.02 (H3-C), 3.90 (H3-B), 3.85 (H3-A), 3.82 (H3-D), 3.73 (H3-E), 3.77 (H4-C), 3.60–3.67 (H4-A, H4-B, H4-D, H4-E), 3.71–3.77 (H5-B, H5-C, H5-D), 3.65 (H5-E), 3.56 (H5-A), 3.68–3.76 (H6-A, H6-B, H6-C, H6-D, H6-E), 3.82–3.89 (H6'-A, H6'-B, H6'-C, H6'-D, H6'-E), 3.82; 3.56 (CH<sub>2</sub>O), 3.09 (2 H, м, CH<sub>2</sub>N), 1.95 (2 H, м, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>). Спектр <sup>13</sup>C-ЯМР: 103.3 (C1-E), 102.8 (C1-D), 101.8 (C1-B), 101.7 (C1-C), 99.3 (C1-A), 80.1 (C2-A), 79.8 (C2-B), 78.5 (C2-C), 78.3 (C3-C), 74.8, 74.6, 74.5, 74.4 (C5-B, C5-C, C5-D, C5-E), 74.0 (C5-A), 71.7, 71.5, 71.3 (×2), 71.1 (×2) (C2-D, C2-E, C3-A, C3-B, C3-D, C3-E), 68.3; 68.1; 67.9 (×3) (C4-A, C4-B, C4-C, C4-D, C4-E), 62.4; 62.2 (×2), 62.1 (×2) (C6-A, C6-B, C6-C, C6-D, C6-E), 66.2 (CH<sub>2</sub>O), 38.6 (CH<sub>2</sub>N), 27.8 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>).

**3-Аминопропил- $\alpha$ -D-маннопиранозил-(1  $\rightarrow$  2)- $\alpha$ -D-маннопиранозид (XXV)** получен из дисахарида (VIII) по методике Г. Выход 95%,  $[\alpha]_D^{+53}$ . Спектр <sup>1</sup>H-ЯМР: 5.10 (1 H, с, H1-A), 5.02 (1 H, с, H1-B), 4.07 (1 H, уш. с, H2-B), 3.98 (1 H, уш. с, H2-A), 3.90 (H3-A), 3.84 (H3-B), 3.68 (H4-A), 3.61 (H4-B), 3.77 (H5-B), 3.62 (H5-A), 3.70–3.79 (H6-A, H6-B), 3.88–3.92 (H6'-A, H6'-B), 3.61, 3.85 (CH<sub>2</sub>O), 3.13 (2 H, м, CH<sub>2</sub>N), 1.99 (2 H, м, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>). Спектр <sup>13</sup>C-ЯМР: 103.5 (C1-B), 99.4 (C1-A), 79.9 (C2-A), 74.5 (C5-B), 74.1 (C5-A), 71.5 (C3-B), 71.4 (C3-A), 71.1 (C2-B), 68.8 (×2) (C4-A, C4-B), 62.2; 62.4 (H6-A, H6-B), 66.2 (CH<sub>2</sub>O), 38.7 (CH<sub>2</sub>N), 27.8 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>).

**[3-(3,4-Диоксо-2-этоксициклобут-1-ениламино)пропил]- $\alpha$ -D-маннопиранозил-(1  $\rightarrow$  2)- $\alpha$ -D-маннопиранозид (XXVII)**. К раствору 10 мг (0.022 ммоль) дисахарида (XXV) в 0.8 мл 50% водного этанола прибавляли 4 мкл (0.027 ммоль) диэтилсварата (XXVI) и 3 мкл триэтиламина, выдерживали смесь 16 ч при комнатной температуре и упаривали. Остаток растворяли в воде, наносили на патрон Sep-Pak C-18, который промывали сначала 10 мл воды, затем продукт элюировали водным метанолом порциями по 2 мл, увеличивая концентрацию метанола от 5 до 20%. После упаривания элюата и последующей лиофилизации получили 13 мг (90%) моноамида (XXVII). Спектр <sup>1</sup>H-ЯМР: 1.43 (3 H, м, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.92 (2 H, м, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N), 3.60; 3.72 (2 H, 2 м, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N), 3.56; 3.81 (2 H, 2 м, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N), 4.70; 4.74 (2 H, 2 кв, J 7.2 Гц, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 5.04; 5.06 (1 H, 2 с, H1-A); углеводная часть спектра практически не отличалась от спектра исходного 3-аминопропилгликозида (XXV), за исключением сигнала H1-A. Спектр <sup>13</sup>C-ЯМР: 16.0, 16.3 (1 C, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 30.3; 30.4 (1 C, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N), 43.1; 43.2 (1 C, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N), 66.1; 66.2 (1 C, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N), 71.9 (1 C, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 174.7 (циклобутендион); углеводная часть спектра практически не отличалась от спектра исходного 3-аминопропилгликозида (XXV).

**Конъюгат дисахарида с БСА (XXVIII)**. Раствор 4 мг (7.6 мкмоль) моноамида (XXVII) и 25 мг (0.37 мкмоль) БСА в 6 мл буферного раствора с pH 9 (250 мл воды, 8.8 г KHCО<sub>3</sub>, 6.7 г Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub> · 10H<sub>2</sub>O) выдерживали 3 сут при комнатной температуре. Конъюгат выделяли гель-хроматографией в воде на колонке с сефадексом G-15 и лиофилизовали из воды. Получили 17 мг (59%) конъюгата (XXVIII). Масс-спектр MALDI-TOF см. рис. 2.

**[3-(3,4-Диоксо-2-этоксициклобут-1-ениламино)пропил]- $\alpha$ -D-маннопиранозил-(1  $\rightarrow$  2)-[ $\alpha$ -D-маннопиранозил-(1  $\rightarrow$  3)]- $\alpha$ -D-маннопиранозил-(1  $\rightarrow$  2)- $\alpha$ -D-маннопиранозид (XXIX)**. К раствору 9.8 мг (0.011 ммоль) пентасахарида (III) в 1 мл 50%-ного водного этанола прибавляли 4 мкл (0.027 ммоль) диэтилсварата (XXVI) и полученную смесь выдерживали 16 ч при комнатной температуре. Затем прибавляли 3 мкл триэтиламина и через 5 ч растворитель упаривали. Остаток растворяли в 2 мл воды, раствор наносили на патрон Sep-Pak C-18, который сначала промывали 10 мл воды, затем продукт элюировали градиентом метанола в воде (5%  $\rightarrow$  20%). Элюат упаривали, остаток лиофилизовали из воды и получили 9.3 мг (84%) аддукта (XXIX),  $[\alpha]_D^{+45}$ . Спектр <sup>1</sup>H-ЯМР: 1.44 (3 H, м, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.92 (2 H, м, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N), 3.52; 3.73 (2 H, 2 м, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N), 3.57; 3.81 (2 H, 2 м, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N), 4.71; 4.75 (2 H, 2 кв, J 7.0 Гц, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 5.02; 5.04 (1 H, 2 с, H1-A); углеводная часть спектра практически не отличалась от спектра исходного 3-аминопропилгликозида (III), за исключением сигнала H1-A. Спектр <sup>13</sup>C-ЯМР: 16.4, 16.5 (1 C, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 30.5, 30.7 (1 C, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N), 43.0; 43.2 (1 C, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N), 66.2; 66.3 (1 C, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N), 71.9; 72.0 (1 C, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 99.5; 99.6 (1 C, C1-A), 174.7; 178.3; 184.5; 190.3 (циклобутендион); углеводная часть спектра практически не отличалась от спектра исходного 3-аминопропилгликозида (III), за исключением сигнала C1-A.

**Конъюгат пентасахарида с БСА (XXX)**. Раствор 4.5 мг (4.5 мкмоль) производного (XXIX) и 15.2 мг БСА в 3 мл буферного раствора (pH 9) выдерживали 2 сут при комнатной температуре. Конъюгат выделяли гель-хроматографией на колонке с сефадексом G-15 в воде и лиофилизовали. Получили 9 мг (46%) конъюгата (XXX). Масс-спектр MALDI-TOF см. рис. 2.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 05-03-08107). Авторы благодарны А.А. Грачеву за съемку спектров ЯМР и И.Ю. Торопыгину за съемку масс-спектров MALDI-TOF.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Masuoka J. // Clin. Microbiol. Rev. 2004. V. 17. P. 281–310.
- Shibata N., Fukazawa S., Kobayashi H., Tojo M., Yonezu T., Ambo A., Ohkubo Y., Suzuki S. // Carbohydr. Res. 1989. V. 187. P. 239–253.
- Kogan G., Pavliak V., Masler L. // Carbohydr. Res. 1988. V. 172. P. 243–253.
- Ogawa T., Yamamoto H. // Carbohydr. Res. 1982. V. 104. P. 271–283.
- Zhu Y., Kong F. // Synlett. 2000. № 12. P. 1783–1787.
- Grathwohl M., Schmidt R.R. // Synthesis. 2001. № 15. P. 2263–2272.
- Ogawa T., Yamamoto H. // Carbohydr. Res. 1985. V. 137. P. 79–87.
- Zeng Y., Zhang J., Kong F. // Carbohydr. Res. 2002. V. 337. P. 1367–1371.
- Zeng Y., Zhang J., Ning J., Kong F. // Carbohydr. Res. 2003. V. 338. P. 5–9.
- Merritt J.R., Fraser-Reid B. // J. Amer. Chem. Soc. 1992. V. 114. P. 8334–8336.
- Dudkin V.Y., Orlova M., Geng X., Mandal M., Olsson W.C., Danishefsky S.J. // J. Amer. Chem. Soc. 2004. V. 126. P. 9560–9562.
- Peters T. // Liebigs Ann. Chem. 1991. P. 135–141.
- Crich D., Sun S. // Tetrahedron. 1998. V. 54. P. 8321–8348.
- Wu X., Bundle D.R. // J. Org. Chem. 2005. V. 70. P. 7381–7388.
- Zhang Y.-M., Mallet J.-M., Sinaj P. // Carbohydr. Res. 1992. V. 236. P. 73–88.
- Lemanski G., Ziegler T. // Helv. Chim. Acta. 2000. V. 83. P. 2655–2675.
- Tietze L.F., Arlt M., Beller M., Glüsenkamp K.-H., Jähde E., Rajewsky M. // Chem. Ber. 1991. V. 124. P. 1215–1221.
- Kamath V.P., Diedrich P., Hindsgaul O. // Glycoconj. J. 1996. V. 13. P. 315–319.
- Chernyak A., Karavanov A., Ogawa Y., Kováč P. // Carbohydr. Res. 2001. V. 330. P. 479–486.
- Нифантьев Н.Э., Бакиновский Л.В., Липкинд Г.М., Кочетков Н.К. // Биоорганич. химия. 1991. Т. 17. С. 517–530.

## Synthesis of Oligosaccharide Fragments of Mannan from *Candida albicans* Cell Wall and Their BSA Conjugates

A. A. Karelin<sup>a</sup>, Y. E. Tsvetkov<sup>a</sup>, G. Kogan<sup>b</sup>, S. Bystricky<sup>b</sup>, and N. E. Nifantiev<sup>a, #</sup>

<sup>#</sup> Phone/fax: +7 (495) 135-8784; e-mail: nen@ioc.ac.ru

<sup>a</sup> Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Leninskii pr. 47, Moscow, 119991 Russia

<sup>b</sup> Institute of Chemistry, Slovak Academy of Sciences, Dúbravská cesta 9, 842 38 Bratislava, Slovakia

3-Aminopropyl glycosides of  $\alpha$ -D-mannopyranosyl-(1  $\rightarrow$  2)- $\alpha$ -D-mannopyranosyl-(1  $\rightarrow$  2)- $\alpha$ -D-mannopyranosyl-(1  $\rightarrow$  2)- $\alpha$ -D-mannopyranose,  $\alpha$ -D-mannopyranosyl-(1  $\rightarrow$  3)- $\alpha$ -D-mannopyranosyl-(1  $\rightarrow$  2)- $\alpha$ -D-mannopyranosyl-(1  $\rightarrow$  2)- $\alpha$ -D-mannopyranose, and  $\alpha$ -D-mannopyranosyl-(1  $\rightarrow$  2)-[ $\alpha$ -D-mannopyranosyl-(1  $\rightarrow$  3)]- $\alpha$ -D-mannopyranosyl-(1  $\rightarrow$  2)- $\alpha$ -D-mannopyranosyl-(1  $\rightarrow$  2)- $\alpha$ -D-mannopyranose were efficiently synthesized starting from ethyl 2-O-acetyl(benzoyl)-3,4,6-tri-O-benzyl-1-thio- $\alpha$ -D-mannopyranoside, ethyl 4,6-di-O-benzyl-2-O-benzoyl-1-thio- $\alpha$ -D-mannopyranoside, ethyl 4,6-di-O-benzyl-2,3-di-O-benzoyl-1-thio- $\alpha$ -D-mannopyranoside, and 2,3,4,6-tetra-O-benzoyl- $\alpha$ -D-mannopyranosyl bromide. The oligosaccharide chains synthesized correspond to the three structural types of side chains of mannan from *Candida albicans* cell wall. A conjugate of the third pentasaccharide with bovine serum albumin was prepared using the squarate method. The English version of the paper: *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2007, vol. 33, no. 1; see also <http://www.maik.ru>

*Key words:* *Candida albicans*, mannan, neoglycoconjugates, oligomannosides, synthesis