ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ

НАУКИ

ИНСТИТУТ ОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ им. Н.Д. ЗЕЛИНСКОГО РАН

На правах рукописи

ВИННИЦКИЙ ДМИТРИЙ ЗИНОВЬЕВИЧ

СИНТЕЗ И ИЗУЧЕНИЕ АНТИКОАГУЛЯНТНОЙ АКТИВНОСТИ ОЛИГОСАХАРИДОВ, РОДСТВЕННЫХ РАЗВЕТВЛЕННЫМ ФРАГМЕНТАМ ФУКОИДАНА ИЗ ВОДОРОСЛИ *CHORDARIA FLAGELLIFORMIS*

02.00.03 – органическая химия 02.00.10 – биоорганическая химия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата химических наук

> Научные руководители: с.н.с., к.х.н. Устюжанина Н.Е. н.с., к.х.н. Крылов В.Б.

МОСКВА – 2015

оглавление

СПИСОК И	СПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ	3
Часть 1.ВВН	ЕДЕНИЕ	6
Часть 2.ЛИ	ГЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР	9
2.1 Вве	дение	9
2.2 Бак	териальные углеводные соединения, содержащие α-D-GlcA	10
2.2.1	Капсульные полисахариды, содержащие звено α-D-GlcA	11
2.2.2	Липополисахариды бактерий, содержащие звено α-D-GlcpA	17
2.2.3	Экзополисахариды бактерий, содержащие звено α-D-GlcpA	27
2.2.4	Гликолипиды бактерий, содержащие звено α-D-GlcpA	33
2.2.5	Тейхоевые кислоты, содержащие звено α-D-GlcpA	35
2.2.6	Другие бактериальные биомолекулы, содержащие звено α-D-GlcpA	36
2.3 Pac	тительные углеводные соединения, содержащие звено α-D-GlcpA	36
2.3.1	Глюкуроноксиланы	36
2.3.2	Глюкуроногалактаны	41
2.3.3	Фукоиданы, содержащие звено α-D-GlcpA	43
2.3.4	Другие растительные углеволы, содержащие звено α-D-GlcpA	44
2.3.5	Растительные гликоконъюгаты, солержащие звено α-D-GlcpA	46
2.4 Зак	лючение	49
Часть З.ОБС	УЖЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ	
3.1 Рет	росинтетический анализ целевых соединений	51
3.2 Син	тез целевых тетрасахаридов 1-4	55
3.3 Син	нтез целевых тетрасахаридов 5-7 и пентасахаридов 8-10	57
3.3.1	Синтез дифукозида 15	57
3.3.2	Синтез глюкуронил-доноров 16 и 18	58
3.3.3	Синтез целевых тетрасахаридов 5-7	60
3.3.4	Получение фукофуранозных синтетических блоков	63
3.3.5	Синтез целевых пентасахаридов 8-10.	74
3.4 Cpa	внение спектров синтезированных соединений и фрагментов природных	
фукоидан	OB	76
3.5 Исс	следование антикоагулянтной активности	79
Часть 4.ВЫ	ВОДЫ	82
Часть 5.ЭКС	СПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	83
5.1 Вве	дение	83
5.2 Син	нтез целевых тетрасахаридов 1-4	84
5.3 Син	нтез целевых тетрасахаридов 5-7 и пентасахаридов 8-10	95
5.3.1	Синтез дифукозида 15	95
5.3.2	Синтез глюкуронил-доноров 16 и 18	.100
5.3.3	Синтез целевых тетрасахаридов 5-7	.107
5.3.4	Получение фукофуранозных синтетических блоков	.119
5.3.5	Синтез пентасахаридов 8-10	.136
5.4 Pac	чет энергии стабилизации карбокатионов	
5.5 Исследование антикоагулянтной активности		.150
Часть 6.СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАНОЙ ЛИТЕРАТУРЫ		151

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

- 2-АРВ 2-Аминоэтилдифенилборинат
- **2HOMyr** 2-Гидрокси-тетрадекановая кислота (миристиновая кислота)
- **ЗНОМуг** 3-Гидрокси-тетрадекановая кислота
- 6dTal 6-Дезокси-талоза
- Аве Абеквоза (3,6-ди-дезокси-D-ксилогексоза)
- Ас Ацетил
- **Ala** Аланин
- All Аллил
- ВАІВ Бис(ацетокси)йодбензол
- **Bn** Бензил
- Bu Бутил
- **Bz** Бензоат
- СА Хлорацетат
- **СЕК** Церамид (N-ацетилированный сфингозид)
- Col Колитоза (3,6-ди-дезокси-L-ксило-гексоза)
- CSA (±)-Камфора-10-сульфоновая кислота
- **DCM** Дихлорметан
- **DmanHep** Глицеро-D-манногептоза
- **DMF** N, N-Диметилформамид
- ESI-MS Масс-спектр, ионизация в электроспрее
- **Еt** Этил
- f Фураноза
- **Fo** Муравьиная кислота
- Fru Фруктоза
- **Fuc** Фукоза (6-дезоксигалактоза)
- FucN 2-Амино-2,6-ди-дезоксигалактоза
- Gal Галактоза
- GalA Галактуроновая кислота
- GalN 2-Амино-2-дезоксигалктоза
- Glc Глюкоза
- GlcA Глюкуроновая кислота

GlcN – 2-Амино-2-дезоксиглюкоза

Glc-ol – Глюцитол (сорбит)

Glu – Глутаминовая кислота (2-аминопентандиовая кислота)

Gro – Глицерин

GroN – 2-Амино-2-дезоксиглицерин

Gul – Гулоза

Іdo – Идоза

IdoA – Идуроновая кислота

КDN – 3-Дезокси-D-глицеро-D-галакто-нон-2-улозоновая кислота

КОО – 3-Дезокси-D-манно-окт-2-улозоновая кислота

Lac – Эфир 2-гидроксипропановой кислоты (молочной кислоты)

Leg – 5,7-Диамино-3,5,7,9-тетрадезокси-D-глицеро-D-галкто-нон-2-улозоновая

кислота

LIP – Липидный остаток (остаток высшей жирной кислоты)

Man – Манноза

ManN – 2-Амино-2-дезоксиманноза

MBn – Пара-метоксибензил

Ме-Метил

MS – Молекулярные сита

NAD – Никотинамидадениндинуклеотид

Ole – Олеиновая кислота (цис-9-октадеценовая кислота)

р – Пираноза

Рат – Пальмитиновая кислота (гексадекановая кислота)

 $\mathbf{Ph} - \Phi$ енил

 $\mathbf{Pr} - \Pi \mathbf{poпun}$

Pse – 5,7-Диамино-3,5,7,9-тетрадезокси-L-глицеро-L-манно-нон-2-улозоновая

кислота

 $\mathbf{P}\mathbf{y} - \Pi$ иридин

Pyr – Ацеталь пировиноградной кислоты

Qui – Хиновоза (6-Дезоксиглюкоза)

QuiN – 2-Амино-2,6-дидезоксиглюкоза

Rha – Рамноза

Rib – Рибоза

Ser – Серин (2-амино-3-гидроксипропановая кислота)

Sph – Сфингозин

Tal – Талоза

TalN – 2-Амино-2-дезокситалоза

Таи – Таурин (2-аминоэтансульфоновая кислота)

ТВDMS – *Трет*-бутилдиметилсилил

ТВDPS – *Трет*-бутилдифенилсилил

ТЕМРО – 2,2,6,6-Тетраметил-1-пиперидинилоксил

Тf – Трифторметансульфонат

ТFA – Трифторуксусная кислота

ТНF – Тетрагидрофуран

Thr – Треонин (2S,3R-2-амино-3-гидроксибутановая кислота)

TMS – Триметилсилил

Tol — Толуол

Tr – Тритил (трифенилметан)

UDP – Уридиндифосфат

Xyl – Ксилоза

АЧТВ – Активированное частичное тромбопластиновое время

ВИЧ – Вирус иммунодефицита человека

ГАГ – Гликозаминогликан

ГК – Глюкуроноксилан

ДМФА – N,N-Диметилформамид

КПС – Капсульный полисахарид

КССВ – Константа спин-спинового взаимодействия

ЛПС – Липополисахарид

ПЭ – Петролейный эфир

ТСХ – Тонкослойная хроматография

цАМФ – Циклический аденозинмонофосфат

ЭА – Этилацетат

ЭПС – Экзополисахарид

ЯМР – Ядерный магнитный резонанс

Часть 1.

Введение

Установление взаимосвязи между структурой и свойствами природных соединений является важнейшей задачей современной химии. Результаты таких исследований дают ценную информацию для понимания механизмов многих биологических процессов. Кроме того, на основе активных соединений известного строения могут быть разработаны фармацевтические препараты для лечения целого ряда социально-значимых заболеваний.

Среди исследуемых в последнее время биополимеров возрастающий интерес вызывают полисахариды фукоиданы, выделяемые из бурых водорослей и некоторых видов беспозвоночных. Наглядной иллюстрацией этого служит рост публикаций по данной тематике: от единичных статей в начале 80-х до более чем 200 статей только за 2014 год (по данными SciFinder CAS). Причина же подобного интереса заключается в широком спектре биологических свойств, проявляемых этими полисахаридами. В частности, было показано, что фукоиданы эффективно ингибируют процессы воспаления, опосредованные L- и P-селектинами [1-3], обладают антикоагулянтным [4, 5] и антиангиогенным [6,7] действием, блокируют бактериальную адгезию на клетках млекопитающих [8]. Такой уровень биологической активности делает фукоиданы не только чрезвычайно интересными объектами для дальнейших исследований, но и позволяет рассматривать их в качестве основы для создания новых эффективных лекарственных препаратов.

Фукоиданы построены преимущественно из сульфатированных остатков α -L-фукопиранозы. Наиболее часто встречаются два типа главных цепей фукоиданов: одни построены из повторяющихся (1 \rightarrow 3)-связанных фукозных остатков, для других характерно чередование (1 \rightarrow 3)- и (1 \rightarrow 4)-связанных фукозных звеньев. Однако основное влияние на тип физиологической активности, проявляемый тем или иным фукоиданом, оказывают другие, более тонкие детали строения, а именно: степень сульфатирования, положение сульфатных групп, наличие разветвлений (остатков фукозы, глюкозы, галактозы, глюкуроновой кислоты, маннозы), молекулярный вес. Указанные детали структуры определяются

6

биологическим источником и условиями его роста, а также зависят от времени сбора и методов выделения полисахаридов.

С целью выявления фармакофорных группировок фукоиданов в нашей лаборатории проводится направленный синтез, конформационный анализ и исследование биологической активности олигосахаридов, родственных различным участкам цепей этих полисахаридов. Ранее нами уже были синтезированы гомофукозидные олигосахариды, отвечающие как неразветвленным, так и разветвленным фрагментам различных фукоиданов, а так же ди- и трисахариды, содержащие помимо α-L-фукопиранозы остатки α-D-глюкуроновой кислоты. Конформационный анализ и исследование биологической активности полученных олигосахаридов доказали эффективность использования подобных структур в качестве модельных соединений.

Настоящая работа посвящена синтезу олигосахаридов, родственных фукоидану из водоросли Chordaria flagelliformis. Данный фукоидан интересен как уровень своими биологическими свойствами (высокий антикоагулянтной, антиангиогенной и иммуностимулирующей активности), так и необычным строением. Основная цепь этого полисахарида построена ИЗ частично сульфатированных (1→3)-связанных остатков α-L-фукопиранозы [9]. При О-2 некоторых звеньев основной цепи присутствуют как незамещенные остатки α-Dглюкуроновой кислоты, так и более сложные фрагменты, состоящие из остатков α -D-глюкуроновой кислоты, несущей при *O*-4 сульфатированный остаток α-Lфукофуранозы (Рисунок 1). Именно наличие остатков α-L-фукофуранозы делает данный полисахарид уникальным в ряду фукоиданов, поскольку до настоящего времени не было обнаружено других биополимеров данного класса, имеющих в своем строении фуранозные остатки.

Для выяснения влияния отдельных структурных элементов этого фукоидана на величину биологического эффекта нами был проведен синтез и исследование антикоагулянтной активности 10 родственных олигосахаридов. В качестве объектов синтеза были выбраны несульфатированные **1**, **3**, **5**, **8**, избирательно сульфатированные **7**, **10** и полностью сульфатированные **2**, **4**, **6**, **9** тетра- и пентасахариды (Рисунок 1), построенные из остатков α-L-фукопиранозы, α-D-

7

глюкуроновой кислоты и α-L-фукофуранозы, родственные разветвленным участкам фукоидана из водоросли *C. flagelliformis*.



Рис. 1. Фрагмент фукоидана из водоросли *C. flagelliformis* и целевые олигосахариды 1-10.

Работа выполнена в лаборатории химии гликоконъюгатов (№52) Института органической химии имени Н.Д. Зелинского РАН. Диссертация состоит из 7 частей: Введения, Литературного обзора, посвященного природным соединениям бактериального и растительного происхождения, содержащим остатки α-D-глюкуроновой кислоты, Обсуждения результатов, Выводов, Экспериментальной части и Списка цитированной литературы.

Нумерация соединений дается арабскими цифрами жирным шрифтом. Ссылки на использованную литературу даются в квадратных скобках.

Часть 2.

ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

«Природные соединения бактериального и растительного происхождения, содержащие остатки α-D-глюкуроновой кислоты»

2.1 Введение

Изучение молекулярных основ биологических процессов стало ключевым направлением исследований в биохимии, молекулярной биологии, фармакологии и других областях наук о живых системах. Знание точной структуры активных соединений необходимо для разработки на их основе биомолекулярных и гибридных систем [10], предназначенных для диагностики и лечения целого ряда социально-значимых заболеваний. Углеводы в виде олиго- и полисахаридов, а конъюгатов с белками, липидами и другими также их биомолекулами присутствуют в любом живом организме. Набор их функций не ограничивается лишь структурной и энергетической, углеводы также выполняют важнейшую роль процессах лиганд-рецепторного узнавания, определяющего многие этапы В жизненного цикла клетки. Все это обуславливает растущий научный интерес к этому классу природных соединений, в целом, и отдельным типам сахаров, в частности.

В рамках данного обзора нами будет рассмотрено многообразие структур, в состав которых входит один из моносахаридов - α -D-глюкуроновая кислота (α -D-GlcA). Интерес к рассмотрению природных соединений, содержащих именно этот углеводный остаток, обусловлен целым рядом причин. С одной стороны, данный моносахарид является производным глюкозы – одного из самых распространенных видов углеводов, а с другой, относится к классу уроновых кислот, достаточно обособленному классу сахаров. Это связано с присутствием в их составе карбоксильной группы, придающей заряд и влияющей на пространственную организацию молекулы, в первую очередь за счет образования водородных связей, а так же ввиду электростатического взаимодействия заряженного карбоксильного остатка. Немаловажным является и тот факт, что, хотя звено α -D-GlcA и встречается в природных соединениях сравнительно редко (в том числе и по

сравнению с β-изомером D-глюкуроновой кислоты), но, в то же время, многие из этих соединений имеют перспективу для практического использования, например, в фармацевтике и пищевой промышленности. В связи с этим, отдельные представители этой группы углеводов либо уже активно исследуется как, например, фукоиданы и ряд других соединений, либо могут стать объектами исследований в самое ближайшее время. К последним можно отнести бактериальные углеводы, особенно капсульные полисахариды и O-антигены, которые могут быть использованы при создании новых вакцин и диагностикумов.

В связи с этим, актуальной становится задача по обобщению и систематизации накопившихся сведений, как обо всех известных производных углеводов указанного типа, так и об их биологических источниках. Эта задача является важным этапом и в изучении роли и своеобразия уроновых кислот как элемента природных углеводов, а значит, и для дальнейших исследований, направленных на применение данных соединений в практической сфере, прежде всего, в медицине.

Круг рассматриваемых соединений будет ограничен содержащими звено α-D-GlcA соединениями бактериального и растительного происхождения. При этом для первых, ввиду их сложности и размера, будут приведены упрощенные кодифицированные структуры (см. расшифровку условных обозначений и сокращений), а для остальных веществ будут приведены полные структуры в их классическом виде.

2.2 Бактериальные углеводные соединения, содержащие α-D-GlcA

α-D-Глюкуроновая кислота достаточно широко представлена в структуре одних из простейших клеточных живых организмов – бактерий. Например, в базе данных Bacterial Carbohydrate Structure Data Base (BCSDB [11]) присутствует информация (на февраль 2015 года) о 388 структурных фрагментах, содержащих звено α-D-GlcA (для сравнения β-D-глюкуроновая кислота встречается 822 раза, а α-D-глюкоза – 2835 раз). Этот моносахарид входит в состав капсульных полисахаридов, липополисахаридов (ЛПС), экзополисахаридов (ЭПС), гликолипидов, тейхоевых других биомолекул бактериального кислот И происхождения. Все они будут рассмотрены ниже в разделах 2.2.1-2.2.6.

2.2.1 Капсульные полисахариды, содержащие звено α-D-GlcA

Среди полисахаридов бактериального происхождения, чаще всего звенья α-D-GlcA встречаются в структуре капсульных полисахаридов – компонентов защитной оболочки, покрывающей клетки многих бактерий и позволяющей бактериям быть более устойчивыми к негативным воздействиям окружающей среды.

Самое большое число структур, включающих звенья α-D-GlcA, относится к капсульным полисахаридам грамотрицательных бактерий рода *Klebsiella*, вызывающих многие заболевания, в том числе пневмонию, урогенитальные инфекции, конъюнктивиты, менингиты, сепсис, острые кишечные инфекции. На Рис. 2 приведены структуры повторяющихся звеньев капсульных полисахаридов *K. aerogenes* и *K. ozaenae* [12].

$$R^{1} - 2) - \alpha - D - GlcpA3Ac - (1 - 3) - \alpha - D - Manp - (1 - 3) - \alpha - D - Glcp - (1 - 3) - \beta - D - Glcp - (1 - 4) - \alpha - D - GlcpA3Ac - (1 - 3) - \alpha - D - Glcp - (1 - 3) - \beta - D - Glcp - (1 - 4) - \alpha - D - GlcpA - (1 - 3) - \alpha - L - Fucp2Ac - (1 - 3) - \beta - D - Glcp - (1 - 4) - \alpha - D - GlcpA - (1 - 3) - \alpha - L - Fucp2Ac - (1 - 3) - \beta - D - Glcp - (1 - 4) - \alpha - D - GlcpA - (1 - 3) - \alpha - L - Fucp2Ac - (1 - 3) - \beta - D - Glcp - (1 - 4) - \alpha - D - GlcpA - (1 - 3) - \alpha - L - Fucp2Ac - (1 - 3) - \beta - D - Glcp - (1 - 4) - \alpha - D - GlcpA - (1 - 3) - \alpha - L - Fucp2Ac - (1 - 3) - \beta - D - Glcp - (1 - 4) - \alpha - D - GlcpA - (1 - 3) - \alpha - L - Fucp2Ac - (1 - 3) - \beta - D - Glcp - (1 - 4) - \alpha - D - GlcpA - (1 - 3) - \alpha - L - Fucp2Ac - (1 - 3) - \beta - D - Glcp - (1 - 4) - \alpha - D - GlcpA - (1 - 3) - \alpha - L - Fucp2Ac - (1 - 3) - \beta - D - Glcp - (1 - 4) - \alpha - D - GlcpA - (1 - 3) - \alpha - L - Fucp2Ac - (1 - 3) - \beta - D - Glcp - (1 - 4) - \alpha - D - GlcpA - (1 - 3) - \alpha - L - Fucp2Ac - (1 - 3) - \beta - D - GlcpA - (1 - 3) - \alpha - L - Fucp2Ac - (1 - 3) - \beta - D - GlcpA - (1 - 3) - \alpha - L - Fucp2Ac - (1 - 3) - \beta - D - GlcpA - (1 - 3) - \alpha - L - Fucp2Ac - (1 - 3) - \beta - D - GlcpA - (1 - 3) - \alpha - L - Fucp2Ac - (1 - 3) - \beta - D - GlcpA - (1 - 3) - \alpha - L - Fucp2Ac - (1 - 3) - \beta - D - GlcpA - (1 - 3) - \alpha - L - Fucp2Ac - (1 - 3) - \beta - D - GlcpA - (1 - 3) - \alpha - L - Fucp2Ac - (1 - 3) - \beta - D - GlcpA - (1 - 3) - \alpha - L - Fucp2Ac - (1 - 3) - \beta - D - GlcpA - (1 - 3) - \alpha - L - Fucp2Ac - (1 - 3) - \beta - D - GlcpA - (1 - 3) - \alpha - L - Fucp2Ac - (1 - 3) - \beta - D - GlcpA - (1 - 3) - \alpha - L - Fucp2Ac - (1 - 3) - \beta - D - GlcpA - (1 - 3) - \alpha - L - Fucp2Ac - (1 - 3) - \alpha - L - Fucp2Ac - (1 - 3) - \alpha - L - Fucp2Ac - (1 - 3) - \alpha - L - Fucp2Ac - (1 - 3) - \alpha - L - Fucp2Ac - (1 - 3) - \alpha - L - Fucp2Ac - (1 - 3) - \alpha - L - Fucp2Ac - (1 - 3) - \alpha - L - Fucp2Ac - (1 - 3) - \alpha - L - Fucp2Ac - (1 - 3) - \alpha - L - Fucp2Ac - (1 - 3) - \alpha - L - Fucp2Ac - (1 - 3) - \alpha - L - Fucp2Ac - (1 - 3) - \alpha - L - Fucp2Ac - (1 - 3) - \alpha - L - Fucp2Ac - (1 - 3) - \alpha - L - Fucp2Ac - (1 - 3) - \alpha - L - Fucp2Ac - (1 - 3) - \alpha - L - Fucp2Ac$$

Рис. 2. Повторяющиеся звенья капсульных полисахаридов K. aerogenes и K. ozaenae.

Наиболее часто звенья α-D-GlcA встречаются в структуре капсульных полисахаридов у представителей самого крупного вида рода Klebsiella – K. *pneumonia*, а именно в его штаммах К4 [13], К6 [14], К8 [15], К13 [16], К15 [17], K17 [18], K19 [19], K21 [18a, 20], K24 [20e, 21], K26 [18a-b, 22], K30 [16a, 23], K31 [18a-b, 24], K33 [16a, 25], K36 [26], K40 [18a-b, 27], K46 [18a-b, d, 28], K50 [29], K51 [30], K54 [16a, 31], K55 [18a-b], K61 [32], K64 [18a, 33], K69 [34], K70 [18b], K74 [18d, 35], K80 [36], K83 [16b], а также 6412 [37] и АТСС 31314 [38]. Повторяющиеся звенья последних двух в качестве примеров приведены на Рис. 3. Эти структуры показывают, что внутри одного штамма повторяющиеся звенья капсульного полисахарида могут быть весьма сходными и различаются лишь такими деталями, как место присоединения боковой цепи или наличие дополнительного заместителя в цепи. Структурное же различие между полисахаридами из разных штаммов и, тем более видов бактерий, может быть значительно существеннее.

Рис. 3. Повторяющиеся звенья капсульных полисахаридов *К. pneumonia* 6412 и ATCC 31314.

Следующим по распространенности содержания звеньев α-D-GlcA В структуре капсульных полисахаридов является род грамположительных бактерий α-D-GlcA найдены Streptococcus. среди которых звенья пока только В полисахаридах вида пневмококков (S. pneumoniae), являющихся одним ИЗ основных возбудителей менингита, среднего отита, синусита и внебольничной пневмонии. Остатки α-D-GlcA найдены в полисахаридах штаммов S. pneumoniae 2 [16a, 39], 9A [40], 9L [16a, 40a-b, d, 41], 9N [16a, 18a, 40a-b, d, 42], 9V [16a, 18a, 40b, 43], 9V SSISP 9V/4 [44], XXII [45], WU2 [46], D39 [46], 9A MNZ869 [44]. Структуры повторяющихся звеньев капсульных полисахаридов двух последних штаммов приведены на Рис. 3. Несмотря на наличие общих элементов, различие между структурами полисахаридов разных штаммов достаточно велико: α-D-GlcA может присутствовать как в основной, так и в боковой цепи, а также иметь или не иметь заместители неуглеводной природы.

S. pneumoniae 9A MNZ869

α**-D-GlcpA**-(1-6)-α-D-Glcp-(1-2)-

-4)-β-D-Glcp-(1-3)-α-L-Rhap-(1-3)-α-L-Rhap-(1-3)-β-L-Rhap-(1-

S. pneumoniae D39

Рис. 4. Повторяющиеся звенья капсульных полисахаридов бактерий вида *S. pneumoniae*.

Остатки α-D-GlcA найдены и в структуре штаммов NCTC 11168 [47], сj1421 [47d] и 81116 [48] капсульных полисахаридов грамотрицательных бактерий вида *Campylobacter jejuni*, являющихся одним из основных возбудителей бактериального гастроэнтерита. Приведенные на Рис. 5 структуры штаммов сj1421

и 81116, показывают насколько сильно может отличаться структура капсульного полисахарида разных штаммов одного и того же вида бактерий.

Рис. 5. Повторяющиеся звенья капсульных полисахаридов С. jejuni cj1421 и 81116.

Еще одним видом бактерий, содержащих остатки α -D-GlcA в структуре капсульного полисахарида, является *Mastigocladus laminosus* - фотосинтезирующие грамотрицательные цианобактерии. Этот вид очень редок и малоизучен, поскольку бактерии *M. laminosus* обитают в термальных водах. Строение их полисахаридов в значительной степени зависит от условий обитания, что существенно затрудняет таксономическое описание [49]. Структурные исследования [50] позволили установить пока строение только одного, но очень сложного, капсульного полисахарида с повторяющимся звеном, содержащим 15 моносахаридных остатков (Рис. 6), в том числе и остатки α -D-GlcA.



Рис. 6. Повторяющееся звено капсульного полисахарида цианобактерии *M.* laminosus.

Остатки α-D-GlcA обнаружены в составе капсульных полисахаридов шести штаммов кишечной палочки *Escherichia coli* (штаммы K27 [16a, 51], K31 [52], K32 [53], K35 [54], O8:K27:H [55] и O8:K43:H11 [56], см. Рис. 7), а также в окрашенной в яркий красный цвет грамотрицательной бактерии из семейства энтеробактерий *Serratia marcescens*. Долгое время считалось, что данный вид, обитающий в бытовых и больничных помещениях, является непатогенным, однако сейчас

известно, что он вызывает катетерный сепсис, урогенитальные инфекции и заражение ран. По имеющейся статистике для США [57], всего на долю *S. marcescens* приходится 1.4% внутрибольничных инфекций. Остатки α-D-GlcA присутствуют в капсульных полисахаридах нескольких штаммов *S. marcescens*: 6, 14 [58], K14, K18, K23 [59a], 3 CDC 863-57 [59b], O23 [60] (см. Рис. 8).

E. coli K35

-2)-α-D-Glcp-(1-3)-β-D-Galp-(1-3)-α-**D-GlcpA**-(1-2)-α-L-Rhap-(1-2)-α-L-Rhap-(1-

E. coli K31

-4)-β-D-Manp-(1-4)-α-D-Glcp-(1-3)-β-D-Glcp-(1-

β-D-GlcpNAc-(1-2)-

-4)- α -D-GlcpA-(1-3)- β -D-Manp-(1-4)- β -D-Manp-(1-3)- β -D-GlcpNAc-(1-

E. coli O8:K43:H11

Рис. 7. Повторяющиеся звенья капсульных полисахаридов E. coli.

$$\alpha-D-GlcpA-(1-3)-1 - 4)-\alpha-D-Manp-(1-3)-\alpha-D-Glcp-(1-3)-\beta-D-Glcp-(1-3)-\beta-D-Glcp-(1-3)-\alpha-D-Manp-(1-3)-\alpha-D-Galp-(1-2)-\alpha-D-GlcpA-(1-3)-\alpha-D-Manp-(1-3)-\alpha-D-Galp-(1-2)-\alpha-D-GlcpA-(1-3)-\alpha-D-Galp-(1-3)-\alpha-D-Galp-(1-2)-\alpha-D-GlcpA-(1-3)-\alpha-D-Galp-(1-2)-\alpha-D-GlcpA-(1-3)-\alpha-D-Galp-(1-2)-\alpha-D-GlcpA-(1-3)-\alpha-D-Galp-(1-2)-\alpha-D-GlcpA-(1-3)-\alpha-D-Galp-(1-2)-\alpha-D-Galp-(1-3)-\alpha-D-$$

S. marcescens K18

Рис. 8. Повторяющиеся звенья капсульных полисахаридов S. marcescens.

Остатки α-D-GlcA найдены и в структуре капсульных полисахаридов бактерии *Shewanella oneidensis* MR-4 [61] (Рис. 9). Данный вид грамотрицательных бактерий, обитающий на дне водоемов, а также в осадочных породах и почве, впервые был обнаружен в 1988 в озере Оньедо (США). Интерес к данному виду

обусловлен редкой способностью бактерий восстанавливать тяжелые металлы из оксидов, в первую очередь, оксидов железа, марганца и урана. Данная особенность может быть использована для защиты металлических поверхностей от коррозии, а также для очистки водоемов от тяжелых металлов.

-4)-β-D-Manp-(1-4)-β-D-Glcp-(1-3)-β-D-GlcpNAc-(1-

Рис. 9. Фрагмент капсульного полисахарида S. oneidensis MR-4.

Еще одним родом грамотрицательных бактерий, содержащих в капсульных полисахаридах остатки α-D-GlcA, является *Proteus*. Данный род бактерийсапрофитов высеен из стоков, разлагающихся тканей и выделений животных. Поражение им может приводить к урогенитальным инфекциям, в том числе и вызывать появление камней в почках (10-15% случаев). Остатки α-D-GlcA идентифицированы в повторяющихся звеньях капсульных полисахаридов *P*. *vulgaris* CP2-96 [62] и *P. mirabilis* [16а] (Рис. 10).

Рис. 10. Повторяющиеся звенья капсульных полисахаридов *P. vulgaris* CP2-96 и *P. mirabilis*.

Другой грамотрицательной бактерией, содержащей остаток α-D-GlcA в капсульном полисахариде, является *Fibrobacter succinogenes* штамма S85 (ATCC 19169) [63] (Рис. 11). Данная бактерия обнаружена в рубце (первый отдел четырехкамерного желудка жвачных животных) крупного рогатого скота и обладает способностью расщеплять целлюлозу, крахмал, глюкозу и другие углеводы до формиатов, ацетатов и сукцинатов.

α-L-Rhap-(1-3)-α-D-Manp-(1-6)-α-D-Manp-(1-4)-α-D-GalpA-(1-6)-α-D-Glcp-(1-4)-α-**D-GlcpA**-(1-1)-Gro Рис. 11. Олигосахаридный фрагмент капсульного полисахарида *F. succinogenes* S85 (ATCC 19169).

Кроме вышеперечисленных бактерий, остатки α-D-GlcA обнаружены также в структуре капсульных полисахаридов грамположительной бактерии Arthrobacter uratoxydans штамма VKM Ac-1979T [64] (обитает в почве и обладает способностью разлагать соли мочевой кислоты, так как вырабатывает соответствующий фермент - уриказу), грамотрицательной бактерии Enterobacter sp. штамм NCIB 11870 [12b], а также грамположительных бактерий видов Mycobacterium lacticolum 121 [65] и Lactobacillus pentosus LPS26 [66]. Содержится остаток α -D-GlcA и в капсульном полисахариде грамположительной бактерии Rhodococcus equi 5 [67], живущей в сухих почвах и вызывающей тяжелые заболевания, включая пневмонию, у домашних животных. Эта бактерия может быть опасна и для людей с ослабленным иммунитетом - ВИЧ-инфицированных и пациентов после трансплантации. Erwinia chrysanthemi (по новым таксономическим правилам Dickeya dadantii [68]) штамма Ech6 [69] также содержит остаток α-D-GlcA. Эта грамотрицательная бактерия из семейства энтеробактерий поражает растения, В первую очередь сельскохозяйственные культуры, такие как картофель, банан, ананас и многие другие. При этом ареал обитания данного вида бактерий - от тропического до умеренного климатического пояса. В связи с этим борьба с этой бактерией является важной экономической проблемой. Возбудитель холеры, грамотрицательная бактерия Vibrio cholerae штамма NRT36S [70], также содержит в составе капсульного полисахарида α-D-GlcA, как и грамотрицательная бактерия Sinorhizobium meliloti 201 [71], симбиотично живущая в корневых клубнях бобовых растений - пажитника, донника и люцерны.

S-Lac-
$$(2-4)$$

-3)-D-Manp- $(1-4)-\alpha$ -**D-GlcpA**- $(1-4)$ -D-Glcp- $(1-$
M. lacticolum 121
-3)- α -D-Glcp- $(1-4)-\alpha$ -**D**-GlcpA- $(1-3)-\alpha$ -D-Glcp- $(1-4)-\alpha$ -L-Fucp- $(1-4)-\alpha$ -L-Fucp- $(1-4)-\alpha$ -L-Fucp- $(1-4)-\alpha$ -D-Glcp- $(1-4)-\alpha$ -D-GlcpA- $(1-3)-\alpha$ -D-Glcp- $(1-4)-\alpha$ -D-GlcpA- $(1-3)-\alpha$ -L-Fucp- $(1-3)-\beta$ -D-Glcp- $(1-6)-\beta$ -D-Glc

Рис. 12. Повторяющиеся звенья капсульных полисахаридов различных бактерий, содержащие остаток α-D-GlcA.

Как видно из рассмотренных данных, остаток α-D-GlcA присутствует в капсульных полисахаридах различных видов бактерий, обладающих совершенно различными свойствами: здесь присутствуют как грамположительные, так и грамотрицательные бактерии, патогенные и непатогенные, обитающие в почве, воде и других организмах.

2.2.2 Липополисахариды бактерий, содержащие звено α-D-GlcpA

Другим типом бактериальных полисахаридов, где обнаружены остатки α -D-GlcA, являются липополисахариды (ЛПС). Они экспонированы на внешней клеточной мембране, которая есть только у грамотрицательных бактерий. ЛПС состоит из трех основных структурных элементов: (1) О-антигена или О-полисахарида, присоединённого к (2) олигосахаридному кору, который в свою очередь соединен с (3) липидом А. Последний является фосфорилированным диглюкозаминовым производным, несущим остатки нескольких жирных кислот, которые играют роль якорей, погруженных в бактериальную мембрану. Известен лишь один пример липида А, содержащего в своем составе остаток α -D-GlcA. Это липид А ЛПС бактерии *Azorhizobium caulinodans* HAMBI216 [72] (Рис. 13) - азотофиксирующей бактерии, обитающей в симбиозе с растениями рода *Sesbania*.

Рис. 13. Строение липида А бактерии A. caulinodans HAMBI216.

Олигосахаридный кор связывает гидрофобный липид А и гидрофильный Оантиген. Кор представляет собой небольшую цепь углеводных остатков, которые могут варьироваться как в рамках разных видов бактерий, так и в ряду штаммов одного вида. Кор многих бактерий содержит гептозы и кетодезоксиоктулозоновую кислоту (KDO), а также неуглеводные заместители - фосфаты, аминокислоты и этаноламин. Часть кора, связанная с липидом А, называется внутренним кором, а связанная с О-антигеном – внешним кором. В настоящее время известны 48 структур коров бактериальных ЛПС, содержащих остаток α-D-GlcA. Наиболее часто он представлен в корах трех видов патогенных бактерий рода *Bordetella*: *B. pertussis* BP1414 [73], неподвижной бактерии вызывающей коклюш, поражающий ежегодно до 39 млн. человек, 300 тысяч из которых умирает (данные Всемирной Организации Здравоохранения за 2000 г.). Строение кора этой бактерии показано на Рис. 14. Помимо этого остатки α-D-GlcA присутствуют в коре возбудителя бронхита - *B. bronchiseptica* штаммов RB50 [73а], MO149, O1, O2 [74], а кроме того в коре *B. hinzii* ATCC 51730 [75], обнаруживаемой у больных муковисцидозом, а также в дыхательной системе животных.



Рис. 14. Строение кора бактерий *B. hinzii* и *B. pertussis*.

Остатки α-D-GlcA обнаружены и в коре уже упоминавшейся выше бактерии *К. pneumoniae* штаммов CWG399, CWG600, CWG603 [73k, 76]. Строение их коров показано на Рис. 15. Важно отметить, что штаммы, содержащие остатки α-D-GlcA в коре, не совпадают со штаммами, содержащими ее в структуре капсульного полисахарида.

Рис. 15. Строение коров бактерий вида К. pneumoniae.

Остатки α-D-GlcA обнаружены и в структуре кора недавно открытой галоалкалофильной бактерии *Salinivibrio sharmensis* BAG(T) [77], обитающей в соленом озере в Рас Моххамед Парк (Египет) (Рис. 16).

β-D-GalpN-(1-4)-β-D-Glcp-(1-4) α-D-GlcpA-(1-2)-L-Gro-α-D-ManHepp-(1-3)-D-Gro-α-D-ManHepp-(1-5)-α-KDOp-(2--/lipid A/ β-D-GlcpA-(1-2)

Рис. 16. Строение кора бактерии S. sharmensis BAG(T).

Еще одной бактерией, содержащей в своем коре остаток α-D-GlcA, является *Vibrio parahaemolyticus* штаммов O2 [78] и KX-V212 [78с, 79] (Рис. 17). Данная бактерия обитает в соленой воде и при попадании в организм человека, прежде всего с сырой или плохо приготовленной морской пищей, может вызывать гастроэнтерит.



Рис. 17. Строение коров бактерий вида V. parahaemolyticus.

Остатки α-D-GlcA обнаружены и в коре бактерии *Rhodobacter sphaeroides* штаммов ATCC 17023 [73c, 80] и 2.4.1 [80] (Рис. 18). Эта фотосинтезирующая азотофиксирующая пурпурная бактерия обитает на дне глубоких озер и в стоячих водах и интересна чрезвычайно высокой активностью фотосинтеза и неприхотливостью при росте.

```
P-8)

Thr-(2-?)-α-D-Glcp-(1-4)-α-D-GlcpA-(1-4)-α-D-GlcpA-(1-4)-КDOp-(2--/lipid A/

Рис. 18. Строение кора бактерии R. sphaeroides ATCC 17023.
```

Остатки α-D-GlcA встречаются и в структуре двух видов азотофиксирующих бактерий рода *Rhizobium*, обитающих в симбиозе с растениями семейства бобовых. Это *R. etli* штаммов 359 [81] и CE3 [82] (Рис. 19), а также *R. meliloti* 102F51 [83]. Эти бактерии обитают в корнях растений и переводят атмосферный азот в аммиак, используемый растениями.

```
α-D-GalpA-(1-5)
α-D-GalpA-(1-4)-α-KDOp-(2-4)
α-D-6dTalp3Me-(1-3)
-4)-α-D-GalpA-(1-4)
-4)-α-D-GalpA-(1-4)
-4)-α-D-Galp-(1-6)-α-D-Manp-(1-5)-α-KDOp-(2--/lipid A/
```

 $\mathsf{R}\text{=-}3)\text{-}\alpha\text{-}\mathsf{L}\text{-}\mathsf{Fucp-(1-3)-}\beta\text{-}\mathsf{D}\text{-}\mathsf{Manp-(1-3)-}\beta\text{-}\mathsf{D}\text{-}\mathsf{QuipNAc-(1-4)-}\alpha\text{-}\mathsf{KDOp-(2-1-4)-}\alpha\text{-}\mathsf{KDOp-($

Рис. 19. Строение кора бактерии R. etli CE3.

Кроме рассмотренных выше примеров, остаток α -D-GlcA идентифицирован также в коре бактерии *Psychromonas arctica* [84], обнаруживаемой в морской воде и льде около Шпицбергена. Данный вид бактерий гало- и психрофилен и способен к росту и размножению в соленой воде уже при температуре +4 °C. Похож по своим свойствам и строению кора вид бактерий, обнаруженный на противоположенном конце Земли – в Антарктиде, на мысе Рассела - *Halomonas alkaliantarctica* CRSS [85]. Структуры коров указанных бактерий представлены на Рис. 20. Кроме этого, остаток α -D-GlcA был обнаружен и в составе коров бактерий *Sinorhizobium* [86] и *Pectinatus frisingensis* VTT/E-82164 [87].

P-3)- α -**D**-**GlcpA**-(1-2) β -D-Fruf-(2-4)- β -D-Glcp-(1-4)-L-Gro- α -D-ManHepp-(1-5)- α -KDOp-(2--/lipid A/ P-3) *P*. arctica β -D-Glcp-(1-2) α -**D**-GlcpA-(1-2)-L-Gro- α -D-ManHepp-(1-3)-L-Gro- α -D-ManHepp-(1-5)- α -KDOp-(2--/lipid A/ β -D-Glcp-(1-4)

H. alkaliantarctica CRSS

Рис. 20. Строение коров бактерий P. arctica и H. alkaliantarctica.

Как отмечалось выше, присоединенная к внешней части кора О-антигенная внешней полисахаридная цепь является частью липополисахарида, экспрессированной во внеклеточное пространство. Прежде всего, именно по Оантигенам происходит опознавание бактерий иммуноглобулинами и другими Строение О-антигенов элементами иммунной системы. является весьма разнообразным, что затрудняет создание вакцин, которые могли бы перекрывать все штаммы одного бактериального вида. В настоящее время известно строение 91 бактериального О-антигена, содержащего остаток α-D-GlcA. Наиболее часто подобные встречаются ЛПС структуры В уже упоминавшегося вида азотофиксирующих бактерий Rhizobium etli штамма CE3. Всего известно 15 различных вариантов структуры О-антигена, содержащего остатки α-Dглюкуроновой кислоты [73k, 82, 88]. Возможные вариации структуры, включающие в себя: конфигурацию остатков 6dTalp и Fucp (D или L), конфигурацию гликозидной связи (α или β) и, наконец, наличие заместителей (2-О-Ас и 3-*O*-Me для 6dTalp, 2-*O*-Me для Fucp, 6-O-Me для GlcpA) отражены на Рис. 21. Важно отметить, что для этого штамма характерно наличие остатков α -D-GlcA и в структуре кора ЛПС.

 (α/β) -(D/L)-6dTalp(2Ac3Me)

-4)-α-D-GlcpA(6Me)-(1-4)-(α/β)-(D/L)-Fucp(2Me)-(1-

Рис. 21. Возможные конфигурации повторяющегося звена О-антигена бактерий вида *R. etli.*

Остаток α-D-GlcA часто встречается и в структуре О-антигенов грамотрицательной бактерии семейства энтеробактерий из рода *Providencia – P. alcalifaciens* в ее штаммах О7 [89], О7:Н7 (34346) [90], О23 [91], О27 [89b, 92], О27:Н17 (5284/50) [90], О28 [89b, 93], О28:Н18 (945/49) [90]. Всего для этой подвижной бактерии, вызывающей диарею, известно 12 структур О-антигенов, содержащих α-D-GlcA, при этом повторяющиеся звенья сильно отличаются при переходе от одного штамма к другому (Рис. 22).

-3)-α**-D-GlcpA**-(1-4)-α-D-GlcpNAc-(1-3)-β-L-Rhap2Ac-(1-4)-β-D-GlcpNAc-(1-*P. alcalifaciens* O7, O7:H7 (34346)

-2)-α-D-Quip4NFo-(1-4)-α-**D-GlcpA**-(1-4)-β-D-Glcp-(1-3)-β-D-GalpNAc(6Ac)-(1-*P. alcalifaciens* O27, O27:H17 (5284/50)

α-D-GlcpA-(1-3)-α-L-Fucp-(1-4)-

-3)- β -D-GlcpNAc-(1-3)- α -L-Fucp-(1-3)- β -D-GlcpNAc-(1-

P. alcalifaciens O28, O28:H18 (945/49)

Рис. 22. Повторяющиеся звенья О-антигенов бактерий вида P. alcalifaciens.

Остатки α-D-GlcA идентифицированы и в структуре О-антигенов палочковидных неподвижных энтеробактерий рода *Shigella*, вызывающих шигеллезы (дизентерию). α-D-GlcA встречается у двух видов бактерий этого рода: наиболее часто вызывающего эпидемии дизентерии *S. dysenteriae* штамм 4 (9 вариантов структуры) [94] и распространенного исключительно на индийском субконтиненте *S. boydii* штаммов 4 [95], 6 (2 варианта) [95, 96], 9 [95], 11 [94с, 97] (Рис. 23).

```
α-L-Fucp-(1-4)

-3)-α-D-GlcpNAc-(1-3)-α-D-GlcpNAc-(1-4)-α-D-GlcpA-(1-3)-α-L-Fucp-(1-

S. dysenteriae 4

-3)-α-L-Rhap-(1-4)-α-D-Glcp-(1-4)-α-D-GlcpA-(1-3)-β-D-GlcpNAc-(1-

\alpha-D-GlcpA-(1-4)

-3)-β-D-Galp-(1-6)-α-D-Manp-(1-2)-α-D-Manp-(1-3)-(α/β)-D-GalpNAc-(1-

S. boydii 9

-3)-β-D-Galp-(1-6)-α-D-Manp-(1-2)-α-D-Manp-(1-3)-(α/β)-D-GalpNAc-(1-

S. boydii 6

\alpha-D-GlcpA-(1-2)

-3)-β-L-Rhap-(1-4)-\alpha-D-GlcpA-(1-3)-β-L-Rhap-(1-4)-β-D-GlcpNAc-(1-

β-D-Ribf-(1-3)

-4)-\alpha-D-GlcpA2Ac3Ac-(1-2)-\alpha-L-Rhap4Ac-(1-3)-β-L-Rhap-(1-4)-β-D-GlcpNAc6Ac-(1-

S. boydii 11
```

Рис. 23. Повторяющиеся звенья О-антигенов бактерий видов S. dysenteriae и S. boydii.

Остаток α-D-GlcA найден и в структуре уже упоминавшейся выше кишечной палочки (*E. coli*) штаммов О105 [98], О110 [99], О120 G3197 [100], О159 [94а],

О168 [94a-d], О175 [101]. Структуры О-антигенов всех штаммов достаточно сильно различаются, как наличием боковых цепей, так и присутствием различных углеводных остатков (Рис. 24). Исключение составляют О-антигены штаммов О159 и О168, отличающиеся только местом присоединения бокового фукопиранозного фрагмента к остатку *N*-ацетилглюкозамина основной цепи – через $(1\rightarrow 3)$ -связь для штамма О168 и через $(1\rightarrow 4)$ -связь для штамма О159. В остальном структуры антигенов этих двух штаммов идентичны.

E. coli O175

Рис. 24. Повторяющиеся звенья О-антигенов бактерий вида E. coli.

Наличие остатка α-D-GlcA зафиксировано и для О-антигенов бактерийсапрофитов *Proteus*. Помимо видов *P. vulgaris* TG277 (O69) [102] и *P. mirabilis* штаммов TG277 [103], PrK 14/57, ATCC 49565 [104], O6 [97b, 103, 105], O33 [106], 2573 [107], сюда относится и вид *P. penneri* 25 (O69) [102, 103, 108]. При этом для этого рода характерно всего два типа повторяющегося звена О-антигена (Рис. 25), отличающихся для разных видов и штаммов лишь присутствием неуглеводных заместителей.

Рис. 25. Повторяющиеся звенья О-антигенов бактерий рода Proteus.

Для вида *Klebsiella pneumoniae* характерно присутствие остатков α -D-GlcA не только в структуре капсульного полисахарида и кора ЛПС, но также и в О-антигенах. Там α -D-GlcA встречается у штаммов К2 [109], К55 [110], 521145 [111]. Для данного вида также характерно всего два типа повторяющегося звена, приведенных на Рис. 26, на котором также показаны повторяющиеся звенья О-антигенов другого выше упомянутого возбудителя пневмонии - *S. pneumoniae* штаммов D [112] и 9V [113].

 α-D-GlcpA-(1-3)
 β-D-Glcp-(1-4)

 -3)-β-D-Glcp-(1-4)-β-D-Manp-(1-4)-α-D-Glcp-(1 α-D-GlcpA-(1-3)-α-D-Galp-(1-3)-α-L-Rhap-(1-1)-Me

 K. pneumoniae K2, 521145
 K. pneumoniae K55

-4)-α-D-Glcp-(1-4)-α-**D-GlcpA**-(1-3)-α-D-Galp-(1-3)-β-D-ManpNAc-(1-4)-β-D-Glcp-(1 *α*-**D-GlcpA**-(1-4)- *S. pneumoniae* 9V L-6dTalp-(1-3)-L-Rhap-(1-3)-D-Galp-(1-2)-L-Rha *S. pneumoniae* D

Рис. 26. Повторяющиеся звенья и фрагменты О-антигенов бактерий видов S. pneumoniae и K. pneumoniae.

Остаток α-D-GlcA обнаружен и в единственном известном виде энтеробактерий рода *Hafnia – H. alvei* штаммов 1192 [89b, 114] и 1204 [89b, 115] (Рис. 27). Эти палочковидные бактерии обитают, в том числе, и в пищеварительной системе человека и обычно не являются патогенными, однако могут вызывать различные инфекционные заболевания у пациентов с ослабленной иммунной системой.

```
β-D-Ribf-(1-4)-α-D-GlcpA-(1-2)-
```

-3)-α-L-Rhap-(1-3)-β-L-Rhap-(1-4)-α-L-Rhap-(1-3)-β-D-GlcpNAc-(1-*H. alvei* 1192

```
-3)-α-D-Manp-(1-2)-α-D-Manp-(1-3)-β-D-GlcpNAc-(1-2)-β-D-Quip3NFo-(1-3)-α-D-GalpNAc-(1-4)-α-D-GlcpA-(1-
H. alvei 1204
```

Рис. 27. Повторяющиеся звенья О-антигенов бактерий вида H. alvei.

Остаток α-D-GlcA идентифицирован и в структуре О-антигенов двух выше упоминавшихся видов бактерий рода *Vibrio*: *V. parahaemolyticus* 2:K3 [116] и *V. cholerae* штаммов Об [89b, 117], O22 [118] и O139 [118, 119] (Рис. 28). Можно отметить как сходство основной цепи для О-антигенов всех штаммов *V. cholerae*, так и отличие между штаммами за счет структуры боковых цепей, а в некоторых случаях и за счет появления дополнительных углеводных остатков в основной цепи.

P-6:4)
-4)-
$$\alpha$$
-D-GlcpA-(1-3)- β -D-QuipNAc-(1-4)- α -Abep-(1-2)- β -D-Galp-(1-3)- β -D-GlcpNAc-(1-
V. cholerae O22
 α -D-GlcpA-(1-4)-
P-6:4)
P-0-GlcpNAc-(1-6)- α -D-GlcpNAc-(1-
P-6:4)
P-0-GlcpNAc-(1-3)- β -D-QuipNAc-(1-
P-6:4)
P-0-GlcpNAc-(1-4)- α -D-GlcpA-(1-
 α -Colp-(1-4)
V. cholerae O139

Рис. 28. Повторяющиеся звенья О-антигенов бактерий V. cholerae.

Остаток α-D-GlcA идентифицирован и в структуре О-антигена единственного известного штамма бактерии *Idiomarina zobellii* KMM 231T [61c, 89b, 120] (Рис. 29). Данный вид был обнаружен в 2000 году в северо-западной части Тихого океана. Он обитает на глубине 4000-5000 метров и для существования ему необходима соленая вода (0,6-15% NaCl) и кислород [121]. До настоящего момента

неизвестно ни одного другого штамма данного вида. Еще одним видом морских бактерий, содержащих остаток α-D-GlcA, является аэробный гетеротрофный вид *Pseudoalteromonas distincta* штамм KMM 638 [122] (Рис. 29).

-3)-α-D-Quip4N-(1-4)-α-**D-GlcpA**-(1-6)-α-D-GlcpNAc-(1-4)-α-L-GulpNA-(1-3)-α-D-FucpNAc-(1-*I. zobellii* KMM 231T

α-D-GlcpA-(1-4)-β-D-GalpNAc-(1-4)-α-D-GalpNAcA-(1-3)

-4)-β-D-QuipNAc-(1-4)-α-Psep5Ac7Fo-(2-

P. distincta KMM 638

Рис. 29. Повторяющиеся звенья О-антигенов бактерий видов I. zobellii и P. distincta.

Остатки α-D-GlcA обнаружены и в структуре О-антигенов нескольких штаммов (O14:K2 [123], O18 [124], O23 [125]) упоминавшейся выше бактерии *S. marcescens* (Рис. 30). Важно отметить, что у всех этих штаммов остаток α-D-GlcA имеется и в структуре капсульного полисахарида.

Рис. 30. Повторяющиеся звенья О-антигенов бактерий вида S. marcescens.

Остаток α-D-GlcA присутствует и в O-антигенах *Rahnella aquatilis* штаммов 95 U003 [126] и 33071Т [89b, 126c] (Рис. 31). Этот достаточно редкий, но распространенный по всему миру вид палочковидных факультативно анаэробных бактерий, чаще всего встречается в свежей воде, хотя обнаруживается он и в почве, и даже высеян из человека, змей и пищеварительного тракта корейского жукаткача. Для человека данный вид является патогенным и вызывает сепсис, респираторные и урогенитальные инфекции.

О-антигены палочковидных патогенных бактерий вида *Cronobacter sakazakii* (бывший вид *Enterobacter sakazakii*) штаммов О1, АТСС 29544 [127, 89b] (Рис. 31) также содержат остаток α-D-GlcA. Указанный вид бактерий чаще всего встречается у взрослых, но особенно он опасен для детей (детская смертность составляет 40-

80%), так как они могут инфицироваться через сухие детские молочные смеси, в которых бактерия может выживать более двух лет.

 β -D-Glcp-(1-3)- α -D-Galp-(1-4)- α -D-GlcpA-(1-2)-

-3)-α-D-Manp-(1-2)-α-D-Manp-(1-3)-β-D-Galp-(1-

R. aquatilis 33071T, 95 U003

L-Ala2Ac-(1-3) -2)-β-D-Quip3N-(1-6)-β-D-Glcp-(1-3)-α-D-GlcpNAc-(1-*C. sakazakii* O1 ATCC 29544

Рис. 31. Повторяющиеся звенья О-антигенов бактерий видов *R. aquatilis* и *C. sakazakii*.

Остаток α -D-GlcA был найден и в структуре O-антигенов еще нескольких бактерий: азотофиксирующих бактерий *Azospirillum brasilense* SR55 [128], обитающих в ризосфере некоторых трав, у бактерий *Moritella viscosa* M2-226 [129], обитающих в водах северной Атлантики и вызывающих так называемую «зимнюю язву» у лососевых рыб, у упоминавшегося выше штамма бактерий *S. oneidensis* MR-4 [61c], содержащего α -D-GlcA также и в структуре капсульного полисахарида, и, наконец, в двух бактериях рода *Bordetella*, вызывающих коклюш и коклюшеподобные заболевания у человека - *B. bronchiseptica* и *B. parapertussis* [130] (Рис. 32).

-3)-β-L-Rhap-(1-4)-α-L-Rhap-(1-3)-α-D-Galp-(1-3)-β-L-Rhap-(1-4)-β-L-Rhap3Me-(1-4)-α-L-Rhap-(1-3)-α-D-Galp-(1-*A. brasilense* SR55

(1-4)-α-D-Quip4N-(1-4)-α-**D-GlcpA**-(1-3) -3)-β-D-GlcpNAc-(1-4)-β-D-Manp-(1-4)-β-D-Glcp-(1-S. oneidensis MR-4 *M. viscosa* M2-226

Рис. 32. Повторяющиеся звенья О-антигенов A. brasilense, M. viscosa и S. oneidensis.

2.2.3 Экзополисахариды бактерий, содержащие звено α-D-GlcpA

Следующим структурным классом бактериальных углеводов, где встречается остаток α-D-GlcA, являются экзополисахариды (ЭПС). Эти внеклеточные

биополимеры выделяются бактерией и остаются либо на её внешней поверхности и обеспечивают сцепление клеток в колонии, либо выделяются во внеклеточное пространство для формирования биопленки и внеклеточного матрикса, создающих структуру бактериальной колонии. ЭПС вместе с белками составляют от 50% до 90% органического вещества биопленок и внеклеточного матрикса и во многом определяют их физико-химические свойства. Как и многие другие бактериальные соединения, ЭПС обладают большим разнообразием структур, как в рамках различных родов, так и в более узких рамках отдельных видов и штаммов. ЭПС по своим свойствам часто похожи на слизь или камедь, ЧТО делает ИХ привлекательными заменителями известных гелеобразователей в производстве и научных исследованиях. Этим и объясняется научный интерес к этому классу бактериальных структур. На сегодняшний день известно около 55 ЭПС, содержащих остатки α-D-GlcA и продуцируемых различными родами, видами и штаммами бактерий.

Наиболее распространены остатки α-D-GlcA в ЭПС, продуцируемых несколькими видами грамотрицательного подвижного облигатно аэробного рода палочковидных протеобактерий Burkholderia, являющихся патогенными для растений и животных, в том числе и человека. Это, прежде всего, вид *B. cepacia* 88A3019, 382, ATCC249, ATCC13945, ATCC25416, [131]. штаммы 542, АТСС25609, АТСС27515 [131е]. Данный вид обитает в воде и почве и способен к выживанию в течение длительного времени в любой окружающей среде. Бактерии этого вида патогенны и вызывают пневмонию. Они особенно опасны для людей с иммунодефицитом, вызываемым хроническим гранулематозом или муковисцидозом. Кроме того они вызывают заболевания у растений, например, лука и табака. С учетом названия данного вида, продуцируемые ЭПС (см. Рис. 33), получили название кепацианов (cepacian).

$$\beta$$
-D-Galp-(1-2)-α-D-Rhap-(1-4)
-3)-α-**D-GlcpA**-(1-3)-α-D-Manp-(1-3)-β-D-Glcp-(1-2)
α-D-Galp-(1-2)



28

Кроме *В. серасіа*, остатки α-D-GlcA идентифицированы в структуре ЭПС *В. руггосіпіа* BTS7 [131d, 132], *В. kururiensis* M130 [133], *В. brasilensis* [133, 134] и *В. vietnamiensis* LMG 10929 [135]. Стоит отметить, что все эти ЭПС крайне похожи на ЭПС *В. руггосіпіа* как структурой основной цепи, так и присутствием боковых цепей. Отличны лишь количество, длина и места присоединения боковых цепей.

β-D-Galp-(1-2)-a-L-Rhap-(1-4)
β-D-Galp-(1-3)-β-D-Glcp-(1-3)-α-D-GlcpA-(1-3)-α-D-Manp-(1-3)-β-D-Glcp-(1-3)-α-D-GlcpA

$$\alpha$$
-D-Galp-(1-2)
 $B. pyrrocinia BTS7$
 α -L-Rhap-(1-4)
 α -D-Galp-(1-2)
 β -D-Galp-(1-2)- α -D-Rhap-(1-4)- α -D-GlcpA-(1-3)- α -D-Manp-(1-3)-D-Glc
 $B. pyrrocinia BTS7$
 α -D-Glcp-(1-4)- α -D-GlcpA-(1-3)- α -L-Fucp
 β -D-Glcp-(1-4)- α -D-GlcpA-(1-3)- α -L-Fucp
 $B. vietnamiensis LMG 10929$

Рис. 34. Фрагменты ЭПС, продуцируемые различными бактериями Burkholderia.

Остаток α-D-GlcA идентифицирован и в структуре ЭПС, выделяемых уже упоминавшимися выше азотофиксирующими бактериями *Rhizobium* (Puc. 35) – в видах *R. meliloti* штаммов M5NICS, NCIMB40472 [136] и IFO13336 [137], *R. fredii* NGR234 [138], *R. leguminosarum* [139] и *R. trifolii* TA-1 [140]. В этих бактериях ЭПС выполняют крайне важную роль – связывают бактерию с корнями растений и почвой. Это необходимо для колонизации ризосферы корней растений и образования симбиотического союза.

Рис. 35. Повторяющиеся звенья ЭПС, продуцируемых бактериями R. meliloti и S. fredii.

Остатки α-D-GlcA обнаружены также в ЭПС, продуцируемых бактериями упоминавшегося выше патогенного для растений вида *E. chrysanthemi* штаммов 9Sm6 [141], SR260 [142, 143], pv. Zeae [142], Ech1 [143], Ech9 [143] и RA3W [144], а также родственного вида – *E. amylovora* [145] (Рис. 36). И если в случае бактерий рода *Rhizobium* ЭПС используется для образования симбиотической связи между растением и бактерией, то в случае *Erwinia* результатом является поражение растения.

Pyr-(4,6)-β-D-Galp-(1-4)

$$\alpha$$
-L-Rhap-(1-3)- α -L-Rhap-(1-4)- α -D-GlcpA-(1-3)

 -4)- α -D-GlcpA-(1-3)- β -D-Galp-(1-3)- α -D-Galp-(1-6)- β -D-Galp-(1-
 -3)- β -D-Glcp-(1-4)- α -D-Manp-(1-3)- α -L-Rhap-(1-6)- β -D-Galp-(1-

 E. amylovora
 E. chrysanthemi

Рис. 36. Повторяющиеся звенья ЭПС, продуцируемых бактериями рода Erwinia.

Продуцируют ЭПС, содержащие остаток α-D-GlcA, даже бактерии, обитающие около глубоководных морских гидротермальных источников. Это бактерии видов *Alteromonas macleodii* ssp. *Fijiensis* [146], *A. infernus* [61c], *Alteromonas* sp. 1644 [147]. Стоит отметить, что структуры ЭПС значительно отличаются друг от друга (Рис. 37), несмотря на схожесть и даже уникальность среды обитания данных бактерий.

Pyr-(4,6)-β-D-Manp-(1-4)-β-D-GlcpA-(1-3)-α-**D-GlcpA**-(1-3)
-4)-β-D-Glcp-(1-4)-α-D-GalpA-(1-4)-α-D-Galp-(1-
A. macleodii ssp. *fijiensis*
$$\alpha$$
-**D-GlcpA**-(1-2)
β-D-Glcp-(1-6)-α-D-Galp-(1-4)-β-D-GlcpA-(1-4)-β-D-GlcpA-(1-3)]
-4)-β-D-Glcp-(1-4)-α-D-GalpA-(1-4)-α-D-Galp-(1-
A. infernus S-2)

Рис. 37. Повторяющиеся звенья ЭПС, продуцируемых бактериями рода Alteromonas.

Обнаружены остатки α-D-GlcA в структуре ЭПС, выделяемых бактериями вида *Raoultella terrigena* (ранее называвшаяся *Klebsiella terrigena*) Ez-555-6 [148] (Рис. 38). Этот вид грамотрицательных аэробных (факультативно анаэробных) неподвижных палочковидных энтеробактерий, обладающих капсульной оболочкой, обитает в основном в почве и воде, реже в растениях. У здоровых людей встречается крайне редко (менее 1% людей являются носителями данного вида) и не является патогенным для людей, несмотря на наличие многих факторов вирулентности, аналогичных факторам вирулентности патогенных бактерий рода *Klebsiella*, родственного роду *Raoultella*. Отдельно стоит отметить, что штамм Ez-555-6, продуцирующий ЭПС, содержащий α-D-GlcA, выделен на территории чернобыльской зоны отчуждения.

Lac-(2-4) β-D-Glcp(3Ac)-(1-6) -6)-α-D-Galp-(1-4)-β-D-Glcp-(1-4)-α-D-Manp-(1-2)-α**-D-GlcpA**-(1-

Рис. 38. Повторяющееся звено ЭПС, продуцируемого бактерией R. terrigena Ez-555-6.

Содержит остатки α-D-GlcA и ЭПС, продуцируемый бактериями вида *Aeromonas nichidenii* 5797 [61c, 149]. Этот вид грамотрицательных факультативно анаэробных палочковидных бактерий встречается как в пресной, так и в слабосоленой воде по всему миру. Он является патогенным – при попадании в организм человека может вызывать гастроэнтерит и заражение ран. ЭПС этой бактерии обладает высокой вязкостью в водных средах за счет образования агрегатов и уже применяется как гелеобразователь в пищевой промышленности Японии [149].

Остатки α-D-GlcA найдены и в составе ЭПС, выделяемого бактериями *Pseudomonas fluorescens* B62 [150]. Данная грамотрицательная облигатно аэробная палочковидная бактерия обитает в воде и почве и не является патогенной для людей с нормально функционирующей иммунной системой. Свое название вид получил благодаря продуцируемому им растворимому флуоресцентному пигменту, называемому пиовердином, относящемуся к классу сидерофоров.

$$\begin{array}{c} & \beta \text{-D-Glcp-(1-4)} \\ & \alpha \text{-D-Manp-(1-4)} \\ & S \text{-Lac-(2-4)-}\alpha \text{-D-GlcpA-(1-4)-}\alpha \text{-L-Fucp-(1-3)} \\ & -3) \text{-}\alpha \text{-D-Manp-(1-3)-}\beta \text{-}D \text{-}Xylp \text{-}(1-3) \text{-}\alpha \text{-}D \text{-}GlcpA \text{-}(1-3) \\ & -4) \text{-}R \text{-}(1-4) \text{-}\beta \text{-}D \text{-}Glcp6Ac \text{-}(1-4) \text{-}\beta \text{-}D \text{-}Glcp6Ac \text{-}(1-4) \\ & R \text{-}\alpha \text{-}D \text{-}Glcp/\alpha \text{-}D \text{-}Manp \\ & P. \ \textit{fluorescens B62} \end{array}$$

Рис. 39. Повторяющиеся звенья ЭПС, продуцируемых бактериями *P. fluorescens* и *A. nichidenii*.

Помимо рассмотренных выше примеров ЭПС, остатки α-D-GlcA содержатся в ЭПС и нескольких других видов бактерий. Это *Gluconacetobacter xylinus* (также *Acetobacter xylinum*) NB11022 [151] – грамотрицательный облигатно аэробный вид палочковидных бактерий, обитающий, прежде всего, в почве и гниющих на земле фруктах. Данный непатогенный вид интересен в первую очередь за счет необычайной способности продуцировать в качестве ЭПС модифицированную целлюлозу с боковыми остатками α-D-GlcA. Указанный ЭПС в настоящее время применяется в текстильной промышленности, а также является объектом научных исследований по установлению механизмов биосинтеза целлюлозы в природе.

Остатки α-D-GlcA содержатся и в ЭПС бактерии *Rhodococcus erythropolis* PR4 [152]. Данный штамм был обнаружен на глубине 1000 метров в Тихом океане к югу от островов Окинава. Он интересен, благодаря способности использовать в качестве источников углерода и энергии нормальные алканы с длиной цепи от 8 до 20 атомов углерода, включая алкилбензолы и пристин (2,6,10,14-тетраметилпентадекан). Показано, что ЭПС этой бактерии способен образовывать комплексы с углеводородами.

Рис. 40. Повторяющиеся звенья ЭПС, продуцируемых бактериями G. xylinus и R. erythropolis.

Остатки α-D-GlcA обнаружены и в структуре ЭПС, продуцируемого (Bacillus polymyxa) S-4 бактерией *Paenibacillus* polymyxa [153]. Данная грамположительная азотофиксирующая бактерия обитает в почве, на корнях растений и в морском иле. Её ЭПС защищают корни растений от патогенов, что делает перспективным их использование в сельском хозяйстве в качестве микробиологического инокулянта. Другой бактерией Bacillus. ИЗ рода продуцирующей ЭПС с остатком α -D-GlcA в своем составе, является *B. circulans* [154]. В отличие от *B. polymyxa*, *B. circulans*, обитающая в почве, является

патогенной для человека и может вызывать гнойные инфекции, воспаление ран и даже заражение крови. Встречается α-D-глюкуроновая кислота в структуре полисахарида, продуцируемого бактериями *Comamonas testosteroni* KF-1 [155] (Рис. 41). Данный вид грамотрицательных аэробных подвижных непатогенных бактерий обитает по всему миру в воде, почве и растениях и способен использовать тестостерон в процессе метаболизма.

Рис. 41. Повторяющиеся звенья ЭПС, продуцируемых бактериями *B. polymyxa*, *B. circulans* и *C. testosteroni*.

Кроме вышеперечисленных примеров ЭПС, остатки α-D-GlcA обнаружены также в структуре ЭПС бактерий *Mycobacterium lacticolum* [16a], *Enterobacter* sp. NCIB 11870, *Klebsiella* sp. K54 [156] (Рис. 42). Эти три вида завершают перечень бактерий, продуцирующих ЭПС, содержащие α-D-GlcA в своем составе.

Рис. 42. Повторяющиеся звенья ЭПС, продуцируемых бактериями *M. lacticolum* и *Enterobacter sp.*

2.2.4 Гликолипиды бактерий, содержащие звено α-D-GlcpA

Следующей группой углеводных соединений бактериального происхождения, содержащих остаток α-D-GlcA в своем составе, являются гликолипиды. Гликосфинголипиды – основная форма гликолипидов в животных тканях, прежде всего в наружном слое плазматической мембраны. Они содержат один или

несколько моносахаридных остатков, а также церамидный фрагмент, в свою очередь, состоящий из сфингозина и остатка жирной кислоты (Рис. 43).



Рис. 43. Строение сфингозина и гликосфинголипида.

Единственный род бактерий, продуцирующих гликосфинголипиды, род грамотрицательных бактерий *Sphingomonas*, использует их в качестве ключевого структурного элемента внешней клеточной оболочки, в отличие от остальных грамотрицательных бактерий, использующих в этом качестве ЛПС.

Sphingomonas широко распространены в природе и обитают на суше, в воде и в корневых системах растений, способны выживать при малых концентрациях питательных веществ и использовать в качестве источника углерода различные соединения, в том числе токсичные. Некоторые представители рода Sphingomonas, особенно вид S. paucimobilis, являются патогенными для человека и чаще всего вызывают внутрибольничные нелетальные инфекции, которые легко лечатся с антибиотиков. α -D-GlcA помощью Остатки встречаются В структуре гликосфинголипидов нескольких видов бактерий рода Sphingomonas. Это, прежде всего, вид S. paucimobilis [157], в том числе штамм LAM 12576 [158], а так же виды S. capsulata GIFU 11526 [157а] и S. adhaesiva [159] (Рис. 44).



Рис. 44. Строение гликосфинголипидов, продуцируемых бактериями рода *Sphingomonas*.

Остатки α-D-GlcA встречаются также в структуре гликолипидов, продуцируемых бактериями рода *Pseudomonas* [160, 161] и видов *Corynebacterium* glutamicum [162], Mycobacterium smegmatis [163] и Hyphomonas jannaschiana [164].



Рис. 45. Строение гликолипидов, содержащих остаток α-D-GlcA.

2.2.5 Тейхоевые кислоты, содержащие звено α-D-GlcpA

Еще одним классом углеводных биополимеров, содержащих в своем составе остаток α -D-GlcA, являются бактериальные тейхоевые кислоты - линейные гетерополимеры, состоящие из повторяющихся остатков полиолов, либо гликозилполиолов, связанных фосфодиэфирными связями. Тейхоевые кислоты обнаружены только в грамположительных бактериях, в которых они являются компонентами клеточной стенки. Тейхоевые кислоты, содержащие остатки уроновых кислот, получили название тейхуроновых кислот. Тейхуроновые кислоты, содержащие остатки α -D-GlcA, обнаружены у бактерий *Streptococcus equinus* (бывш. *Streptococcus bovis*) C3 [165], *Bacillus* sp. C125 [165], *B. megaterium* AHU 1375 [165, 166], *B. licheniformis* NCTC 6346 [165] и *B. subtilis* штаммов W23 [165, 167] и W168 [167] (Рис. 46).



Рис. 46. Углеводные фрагменты тейхоевых кислот, содержащие остаток α-D-GlcA.

2.2.6 Другие бактериальные биомолекулы, содержащие звено α-D-GlcpA

Известно еще четыре углеводные структуры бактериального происхождения, содержащие остаток α-D-GlcA, которые не относятся к вышеперечисленным случаям (Рис. 47). Это альдобиоуроновая кислота - гликан, важный компонент клеточной стенки патогенной бактерии *H. pylori* PTAV79 [168], вызывающей заболевания желудочно-кишечного тракта вплоть до язвы. Также это гликопептид, встречающийся в бактерии *Flavobacterium columnare* штаммов ATCC 43622 и NRCC 6160 [169]. Данный вид является патогенным для рыб, обитающих в теплых водах, и вызывает у них колумнариоз – смертельно опасное заболевание. Кроме того, такими соединениями являются декстран, продуцируемый бактерией вида *Leuconostoc mesenteroides* [170] и гликан с до конца неустановленной структурой, выделенный из бактерии *Nostoc commune* штамм DRH-1 [171].

```
-3)-α-D-GlcpA-(1-4)-α-D-Glcp-(1- α-D-GlcpA-(1-6)-α-D-Glcp-(1-3)-D-Glc

H. pylori PTAV79 L. mesenteroides

α-L-Rhap2Me-(1-4)-

β-D-GlcpNAcA4Me-(1-4)-β-D-GlcpA-(1-4)-β-D-Xylp2Ac3Ac-(1-4)-α-D-GlcpA2Me-(1-2)-α-D-Manp-(1-3)-L-Ser

F. columnare ATCC 43622, NRCC 6160
```

Рис. 47. Фрагменты структур различных бактериальных биомолекул, содержащие α-D-GlcA.

2.3 Растительные углеводные соединения, содержащие звено α-D-GlcpA

Представители царства растений (бурые водоросли, формально являющиеся представителями отдельного царства, также будут рассмотрены в этом разделе, поскольку выделять несколько структур в отдельный раздел нецелесообразно) продуцируют не менее интересные соединения, содержащие остаток α-D-GlcA. Эти вещества относятся к компонентам гемицеллюлоз, полисахаридам из бурых водорослей фукоиданам, а также гликоконъюгатам, включающим фрагменты липидов, терпеноидов, полифенолов.

2.3.1 Глюкуроноксиланы

Часто встречающимися компонентами гемицеллюлоз наряду с глюкоманнанами и ксилоглюканами являются α-D-глюкуронированные ксиланы

36
(глюкуроноксиланы, ГК). В отличие от кристаллической, прочной и устойчивой по отношению к гидролизу целлюлозы, построенной из $(1 \rightarrow 4)$ -связанных остатков β -D-глюкозы в количестве от 7000 до 15000 звеньев на цепь, гемицеллюлозы, за редким исключением, гетерополимерны, аморфны, легко гидролизуются в кислых условиях, а их разветвленные нерегулярные цепи построены из 500-3000 моносахаридных остатков. Основная цепь растительных ксиланов похожа на остатков β-D-ксилозы (за исключением ксиланов из зеленых водорослей рода *Caulerpa* sp., где остатки соединены $(1 \rightarrow 3)$ -связью, а также ксиланов из красных водорослей родов Palmariales и Nemaliales, где присутствуют как $(1 \rightarrow 3)$ -, так и (1→4)-гликозидные связи между остатками ксилозы [172]). Основной цепью глюкуроноксиланов является (1→4)-β-D-ксилан, несущий остатки α-D-GlcA в качестве боковых заместителей, присоединённых через (1→2)- (чаще всего) или (1→3)-связь (соотношение ксилозы к глюкуроновой кислоте может варьировать от 4:1 до 16:1 [173]). При этом остатки α-D-GlcA часто содержат метильную группу при О-4, а могут нести и ацетильные заместители при О-2 или О-3 (Рис. 48).



Рис. 48. Обобщенная структура растительных глюкуроноксиланов.

Впервые о ксилане, содержащем остатки D-GlcA, сообщила в 1945 году группа новозеландских исследователей во главе с МакИлроем [174]. Они установили, что основу гемицеллюлоз новозеландского льна (*Phormium tenax*) составляет полисахарид, построенный из $(1\rightarrow 4)$ -связанных остатков β -D-ксилозы, а также предположили, что звенья D-GlcA входят в состав боковых ответвлений. Однако ученым не удалось установить место присоединения уроновых остатков к основной цепи и конфигурацию глюкуронидной связи. В последующие несколько лет был описан ряд новых ГК, а в начале 50-х годов сразу нескольким группам ученых удалось выделить дисахаридные альдобиоуроновые фрагменты ксиланов гемицеллюлоз, состоящие из α -D-GlcA, присоединенной к D-ксилозе через $(1\rightarrow 2)$ -

Эти СВЯЗЬ. дисахариды различались только наличием дополнительных заместителей, что связано с различными методами анализа и их биологическим происхождением: Чанда, Херст И Персиваль В 1951 году выделили альдобиоуроновую кислоту из клеточной стенки груши сорта «Конференция» [175], Адамс и Бишоп в 1952 - из пшеничной соломы [176], а Уистлер, Конрад и Хью в 1953 - из кочерыжки кукурузного початка [177]. Сообщения об обнаружении ГК в различных частях растений разных видов неоднократно встречаются в журналах на протяжении 50-х и 60-х годов. Уже в 1952 году Джонс и Вайз сообщают о полисахариде этого ряда из осины (*Populus tremuloides*), по их мнению, структурно аналогичному ГК из груши «Конференция» [178]. В последующие годы ГК были обнаружены в гемицеллюлозах сосны (*Pinus sylvestris*) и ели (*Picea nigra*) [179], скандинавской березы (Betula verrucosa) [180], камеди сапотового дерева [181], в древесине ниссы лесной (Nyssa sylvatica) и водной (Nyssa aquatica) [182], оболочке зерен овса [183], листьях, защищающих початки сахарной кукурузы (Zea mays) [184] и пшеничных отрубях [185]. Стоит отметить, что методы выделения, гидролиза и анализа, разработанные в начале 50-х годов стали классическими и использовались практически без изменений до момента распространения современных методов физико-химического анализа. Именно с помощью этих методов было доказано наличие ГК и в составе гемицеллюлоз лучистой сосны (Pinus radiata) [186], древесины североамериканского тополя (Populus tacamahaca) [187], тсуги западной (*Tsuga heterophylla*, из этого растения выделен и трисахарид $[\alpha$ -D-GlcpA-(1 \rightarrow 2)-β-D-Xylp-(1 \rightarrow 4)-D-Xylp]) [188], ладанной сосны (*Pinus taeda*) [189], американского вяза (Ulmus americana) [190], приморской сосны (Pinus pinaster) [191], сосны Эллиота (Pinus elliottii) [192], ситхинской ели (Picea sitchensis) [193].

С конца 50-х исследователи не только показывают наличие ГК, но и стараются определить его основные характеристики: среднюю молекулярную массу и длину цепи, соотношение между ксилозой и глюкуроновой кислотой, то есть количество звеньев цепи на разветвление. К числу работ подобного рода относятся работы по определению ГК в волокне плодов сирийского ваточника (*Asclepias syriaca*) [194] и гемицеллюлозах джута [195]. Последняя работа вызвала большой резонанс ввиду широкого промышленного использования данного вида

растений. Вышедшие затем работы групп Даттона [196] и Адамса [197], посвященные ксиланам в гемицеллюлозах джута, подтвердили и уточнили данные о строении ГК этого растения. Кроме того, вышла еще одна работа о ГК в структуре джутового волокна, в которой были описаны неидентифицированные ранее трисахаридные фрагменты [198]. Необходимо также отметить работы группы Таймела, посвященные ГК в структуре волокна плодов хлопкового дерева (Ceiba pentandra) [199] и древесине сахарного клена (Acer saccharum) [200], а также исследования ГК гемицеллюлоз сизой (канадской) ели (*Picea glauca*) [201] и ГК из пшеничной соломы с $(1 \rightarrow 2)$ -связью между остатком α -D-GlcA и ксилозы основной цепи [202]. Глюкуроксиланы были обнаружены в структуре клеток древесины бумажной березы (Betula papyrifera) [203], единственного сохранившегося представителя реликтового отдела гинкговидных – вида гинкго двулопастного (Ginkgo biloba) [204], что доказывает наличие ГК уже в структуре высших растений эпохи поздней Перми, т.е. более 250 млн. лет назад. Показано наличие ГК в древесине американской лиственницы (Larix laricina) [205], и гемицеллюлозах посевной люцерны (Medicago sativa) [206]. ГК идентифицированы и в структуре гемицеллюлоз черешни (*Prunus avium*) [207], произрастающей в Северной Америке осины (Populus tremuloides) [208], а также встречающегося в Японии растения Ханпи (Wikstroemia sikokiana) [209], используемого с 8 века для производства высококачественной бумаги. В последующем вышли две работы Таймела, посвященные более подробному изучению структуры ксиланов и ГК из древесины березы [210, 211], исследование гемицеллюлоз американской агавы (Agave americana) [212], где были обнаружены и ГК, а так же работу по анализу углеводов в экстракте семян кресс-салата (Lepidium sativum), состав и строение которых указывал на наличие ГК в структуре семян [213]. Присутствие ГК было подтверждено в исследовании гемицеллюлоз папоротника вида Pteridium aquilinum [214], в древесине упомянутой ранее обыкновенной сосны (Pinus radiata) и эвкалипта [215], а также граба обыкновенного (Carpinus betulus) [216] и необработанного хлопка [217].

К концу 60-х интенсивность исследования ГК в различных растениях снизилась, но с появлением в 70-х годах новых методов анализа, в особенности ЯМР-спектроскопии, данные работы стали проводиться активнее. Так, в 1972 году выходят работы по химико-таксономическому изучению гемицеллюлоз складчатой туи (*Thuja plicata*) [218], в составе которой преобладает ГК и европейского бука (*Fagus sylvatica*) [219]. Затем проведено исследование структуры камеди саподиллы (*Achras sapota*, совр. *Manilkara zapota*) [220], основой который служит ГК, что является редкостью для камедей, а так же гемицеллюлоз бамбука [221] и стеблей тростникового арундо (*Arundo donax*) [222], в которых также превалируют ГК.

Принципиально важным явилось исследование ксиланов и ГК из упомянутой выше осины (*Populus tremuloides*) [223], благодаря применению в этой работе ферментативного расщепления гликозидных связей. Среди последующих исследований конца 70-х годов можно отметить две статьи, посвященные ГК в структуре гемицеллюлоз мимозы (*Mimosa scabrella* бывш. *Mimosa bracatinga*) [224] и в иле Балтийского и Черного морей, где также обнаруживаются ГК [225], что показывает их распространенность и в структуре морских растений.

В начале 80-х годов изучено строение гемицеллюлоз из волокна листьев крупнохохолкового ананаса (Ananas comosus) [226] и сансиверии (Sansevieria trifasciata) [227], где также в большом количестве присутствуют ГК. В 1984 году вышла статья [228], где впервые был применен метод 2D ЯМР-спектроскопии, что стало важной вехой в исследованиях ксиланов и ГК. Далее были исследованы ГК в структуре клеточных стенок сахарного тростника (Saccharum officinarum) [229], в коре уже упоминавшегося выше хлопкового дерева [230], в рисовой соломе [231], кочерыжке кукурузы [232]. Из статей, вышедших в первой половине 90-х годов, стоит выделить работы по установлению структуры ГК из семян хлопка [233], волокна репейника (большого лопуха, Arctium lappa) [234] и стебля подсолнечника [235], а также из семян чии или испанского шалфея (Salvia hispanica) [236]. Последняя работа примечательна тем, что помимо стандартных альдобиоуроновых продуктов расщепления ГК были выделены и их аналоги, содержащие еще и глюкопиранозный заместитель. В результате было показано, что исследованный ГК представляет собой не классический ГК, а гетерополисахарид с α-глюкозой в структуре основной цепи (Рис. 49), который, тем не менее, стоит отнести к классу ГК.



Рис. 49. Глюкуроноксилан из семян S. hispanica²³⁶.

Во второй половине 90-х были изучены структуры ГК из виноградных семян (Vitis vinifera cv. Palomino) [237] и сорго (Sorghum vulgare) [238]. Среди последующих работ, выполненных уже в 2000-х годах, необходимо отметить исследование полисахаридных компонентов камеди королевской пальмы - сиагруса Румянцева (Syagrus romanzoffiana) [239], а также камеди из южноамериканской пальмы урукури (Scheelea phalerata) [240], содержащих ГК. В эти же годы были исследованы структура и цитотоксическая активность ГК из древесины посевного каштана (Castanea sativa) [241], а также компоненты гемицеллюлоз, включая ГК, содержащиеся в эвкалипте (Eucalyptus globulus) [242], семенах китайской полыни (Artemisia sphaerocephala) [243] и азиатского подорожника (Plantago asiatica) [244], используемого в народной медицине в восточноазиатском регионе.

В завершение рассмотрения ГК необходимо отметить, что научный интерес к данному виду полисахаридов, возникший более полувека назад, сохраняется и по сей день, хотя акцент в исследованиях сместился с простого обнаружения ГК в отдельных частях различных растений к фундаментальному изучению роли этих полисахаридов в жизненном цикле растений, а также разработке практического применения ГК, что обусловлено их широким распространением в природе. Огромное количество результатов исследований данного полисахарида рассмотрено в обзорах [245, 246].

2.3.2 Глюкуроногалактаны

Глюкуроноксиланы являются не единственным видом природных полисахаридов, содержащих в своей структуре альдобиоуроновые фрагменты, включающие остаток α-D-GlcA. Известна группа полисахаридов, где остаток α-D-GlcA связан с галактозой. Чаще всего это камеди и смолы различных растений, а также элементы клеточных стенок красных водорослей. Впервые подобный

структурный фрагмент был описан в 1956 году на примере полисахарида из смолы лимонного дерева [247]. В данной работе было показано, что выделенный разветвленный полисахарид содержит D-галактозные остатки в основной цепи и остатки 4-О-метил-α-D-глюкуроновой кислоты в боковых цепях, присоединённых к галактозе через (1-4)-связь. Подобный полисахарид был затем выделен и из колючего лайма (Zanthoxylum fagara) [248], смолы произрастающего В Центральной и Южной Америке, а также камеди (гуммиарабике) нильской акации (Acacia nilotica или Vachellia nilotica) [249], используемой людьми с древнейших времен. В последней работе впервые были выделены и идентифицированы 4-О-(α-D-глюкуронопиранозил)-D-галактоза и её 4'-О-метил-производное (в предыдущих работах структура данных дисахаридных компонентов глюкуроногалактанов подтверждалась лишь на основании данных моносахаридного анализа продуктов гидролиза полисахарида).

При исследовании красной водоросли вида Porphyridium cruentum [250] был обнаружен полисахарид, построенный из остатков D- и L-галактозы и α-D-GlcA. В отличие от полисахаридов, выделенных из смол и камедей, в данном случае остатки α -D-GlcA были присоединены к галактозным остаткам с помощью (1 \rightarrow 3)связи. Подобный полисахарид, содержащий D-галактозу и остатки α-D-GlcA был обнаружен, в том числе с использованием методов ЯМР-спектроскопии, и в структуре клеточной стенки одноклеточной красной водоросли Rhodella reticulata [251]. А из водорослей видов Rhodella reticulata, Porphyridium sp и Porphyridium aerugineum был выделен полисахарид, содержащий не D-, а L-галактозу [252]. Стоит отметить, что Porphyridium и Rhodella – родственные одноклеточные организмы. Эти красные водоросли продуцируют сходные полисахариды, строение которых пока до конца не установлено. При этом данные полисахариды значительно отличаются от полисахаридов, продуцируемых подавляющим большинством многоклеточных красных водорослей, не содержащих уроновых кислот.

Глюкуроногалактан, сходный по составу с полисахаридами из красных водорослей и имеющий повторяющееся звено, построенное из остатков α -D-GlcA и D-галактозы, соединенных (1 \rightarrow 3)-связью, был выделен и из смолы каранджи (*Pongamia glabra* или *Millettia pinnata*) [253]. Также можно упомянуть работу [254]

по изучению полисахарида, содержащегося в талломе трёхосного роголистника (*Anthoceros caucasicus*), который оказался сходным по составу с полисахаридами из красных водорослей. Этот полисахарид был построен из остатков L-галактозы, содержащих при *O*-3 остатки α-D-GlcA. Некоторые примеры глюкуроногалактанов представлены на Рисунке 50.



Рис. 50. Дисахаридные фрагменты различных глюкуроногалактанов.

2.3.3 Фукоиданы, содержащие звено α-D-GlcpA

Еще одним классом углеводов, в структуре которых присутствуют остатки α-D-GlcA, являются фукоиданы. Эти полисахариды, выделяемые из бурых водорослей, построены преимущественно из остатков α-L-фукопиранозы и сульфатных групп. Наиболее часто встречаются два типа структуры главной полисахаридной цепи, в которых фукозные остатки соединены через (1-3)-связи или чередующиеся $(1 \rightarrow 3)$ - и $(1 \rightarrow 4)$ -связи. Остатки α -D-GlcA в качестве боковых заместителей идентифицированы в фукоиданах, продуцируемых двумя видами бурых водорослей - *Cladosiphon okamuranus* [255] и *Chordaria flagelliformis* [9]. Эти полисахариды обладают схожей структурой – их основная цепь построена из частично сульфатированных (1→3)-связанных остатков α -L-фукопиранозы, четверть которых содержит (1 \rightarrow 2)-связанные остатки α -D-GlcA. Отличие между обсуждаемыми полисахаридами заключается в том, что примерно половина остатков α-D-GlcA в фукоиданах из водоросли C. flagelliformis содержит α-Lфукофуранозные или 2-О-(α-L-фукофуранозил)-α-L-фукофуранозные заместители, присоединенные к остатку α -D-GlcA через (1 \rightarrow 4)-связь. Структурные фрагменты фукоиданов из Cladosiphon okamuranus и Chordaria flagelliformis показаны на Рис. 51.



Рис. 51. Структурные фрагменты полисахаридных цепей фукоиданов из бурых водорослей *C. okamuranus* и *C. flagelliformis*.

Интерес к исследованию фукоиданов обусловлен, в первую очередь, их высокой биологической активностью. Фукоиданы эффективно ингибируют процессы воспаления. опосредованные L-И Р-селектинами, обладают антикоагулянтным и антиангиогенным действием, блокируют бактериальную адгезию на клетках млекопитающих, проявляют и другие виды активности (см. например, обзоры [256, 257]). Такой спектр биологической активности делает фукоиданы не только чрезвычайно интересными объектами фундаментальных исследований, но и отправной точкой для создания новых высокоэффективных лекарственных препаратов на основе синтетических олигосахаридов, отражающих отдельные структурные фрагменты фукоиданов и их модифицированные производные. В последние годы подобные работы активно развиваются в нашей и других лабораториях [257].

2.3.4 Другие растительные углеводы, содержащие звено α-D-GlcpA

Еще одним видом полисахаридов, содержащих альдобиоуроновые фрагменты, являются глюкуроноарабинаны. Впервые эти макромолекулы были обнаружены в 1954 году в смоле лимона (*Citrus limonia*) [258], причем, при деструктивном анализе глюкуроноарабинана была выделена альдобиоуроновая кислота - 4-*O*-(4-*O*-метил-α-D-глюкуронопиранозил)-L-арабиноза. Этот же дисахарид вместе с трисахаридом (4-*O*-метил-α-D-глюкуронопиранозил)-(1→4)-α-L-арабинопиранозил-(1→5)-L-арабинозой, наряду с галактозными производными, были получены из того же источника и другими авторами [259]. Полученные

данные позволили предположить, что глюкуроноарабинан является фрагментом боковых цепей чрезвычайно разветвленного полисахарида, в основе которого лежит β -D-галактан, с чередующимися (1 \rightarrow 3)- и (1 \rightarrow 6) связями.

Известны также полисахариды, содержащие фрагменты, построенные из остатков α-D-GlcA и рамнозы [260], обнаруженные при анализе смолы произрастающего в Австралии бутылочного дерева брахихитона (*Brachychiton diversifolius*). В полученном полисахариде соотношение рамнозы, галактозы и α-D-GlcA составляло 1:1:2, а при его частичном гидролизе была получена альдобиоуроновая кислота – 2-*O*-α-D-глюкуронопиранозил-L-рамноза. Данные результаты позволили предположить примерную структуру полисахарида, но ни точный тип гликозидных связей, ни конфигурация углеводных остатков установлены не были.

В работе 1972 года при гидролизе полисахаридов, выделенных из клеточных стенок зеленой водоросли (*Chlorella pyrenoidosa*) [261], была получена смесь углеводов, содержащая значительные количества рамнозы и глюкуроновой кислоты, но в рамках данной работы не была установлена даже примерная структура полисахарида. Только спустя четверть века, в 1998 году, другим исследователям удалось выделить альдобиоуроновую кислоту из клеточных стенок родственного вида зеленых водорослей *Chlorella vulgaris* K-22 [262]. Ее структура была определена как 3-*O*- α -D-глюкуронопиранозил-L-рамнопираноза. А уже в следующем году той же группой из того же вида водорослей был выделен трисахарид α -D-глюкуронопиранозил-(1 \rightarrow 3)- α -L-рамнопиранозил-(1 \rightarrow 2)- α -L-рамнопираноза, что сделало возможным приписать данному полисахариду структуру, показанную на Рис. 52 [263].



Рис. 52. Предполагаемая структура повторяющегося звена полисахарида из водоросли *C. vulgaris*.

Помимо рассмотренных выше альдобиоуроновые дисахаридов, из растений были выделены и два олигосахарида, построенных из остатков α-D-GlcA и маннозы. Первый из них, трисахарид, выделенный из клеточных стенок пурпурной розы Скарлетта (Rosa sp.) и белого клена (Acer pseudoplatanus) [264]. Данный трисахарид имеет достаточно необычную структуру – это α-D-маннопиранозил- $(1 \rightarrow 4)$ - α -D-глюкуронопиранозил- $(1 \rightarrow 2)$ -*мио*-инозитол (Рис. 53) и, как было установлено, особенно интенсивно продуцируется в период роста клеток. Хотя природа образования трисахарида остается неясной, авторы работы связали его происхождение с гликофосфосфинголипидами клеточной мембраны. Кроме того было показано, что данный трисахарид обладает свойствами олигосахарина [265], то есть вызывает гормоноподобный ответ при контакте с растительной клеткой. Вторая из найденных структур, построенная из остатков α-D-GlcA и маннозы, является полисахаридом, основная цепь которого состоит из $(1 \rightarrow 3)$ -связанных остатков α-маннозы с включениями альдобиоуроновых фрагментов - 4-О-(β-Dманнопиранозил)-α-D-глюкуроновой кислоты (Рис. 53). Данный полисахарид был обнаружен в семенах абрикоса (*Prunus armeniaca*), произрастающего в районе Гималаев [266].



Рис. 53. Структуры глюкурономаннанов.

2.3.5 Растительные гликоконъюгаты, содержащие звено α-D-GlcpA

Остаток α-D-GlcA найден и в составе целого ряда низкомолекулярных растительных гликозидов, включая глюкуроноглицерины, построенные из глюкуроновой кислоты и глицерина, к которому, в свою очередь, могут присоединяться различные ароматические группы. Впервые соединение подобной

структуры было выделено в 1991 году из клеточных структур свеклы обыкновенной (*Beta vulgaris*) в числе других коньюгатов феруловой кислоты [267]. Его структура была установлена, в том числе и методами ЯМР-спектроскопии, как 1-O-(E)-ферулоил-3- α -D-глюкуроноглицерин (Рис. 54). Родственное соединение (диацилглицерил- α -D-глюкуронид, Рис. 54), было выделено из золотистых водорослей вида *Ochromonas danica* [268]. Ацильные группы в глицериновом фрагменте представлены жирными кислотами с длиной цепи от 18 до 22 атомов углерода. Другими соединениями, рассматриваемого класса, являются метил-1-O-бензоил-3-O- α -D-глюкуронозилглицерин, выделенный из растений рода Вероника, *Veronica cheesemanii* и *Veronica hookeriana* [269], а также 1-O-бензоил-3-O- α -D-глюкуронозилглицерин - из листьев геттарды великолепной (*Guettarda speciosa*) [270] (Рис. 54). Стоит отметить, что функции указанных глюкуроноглицеринов в растениях пока не исследованы.



Рис. 54. Глюкуроноглицериды, содержащие α-D-глюкуроновую кислоту.

Остатки α-D-GlcA обнаружены и в сапонинах, выделяемых из некоторых видов растений. Ввиду большого размера молекул данного класса их структуры нами не приводятся, но они показаны в соответствующих статьях. Впервые два сапонина, состоящие из тритерпенового агликона и пентасахаридной углеводной цепи и содержащие α-D-GlcA в своей структуре, были выделены в 1994 году из корней городчатой ардизии (*Ardisia crenata*) [271], используемой в традиционной китайской медицине для лечения респираторных заболеваний. Сапонинам были

присвоены названия Ардизикренозид (Ardisicrenoside) Е и F и было показано, что данные соединения проявляют умеренную блокирующую способность ПО отношению к цАМФ фосфодиэстеразе. Серия сапонинов, содержащих звено α-D-GlcA, была выделена из соломоцвета шероховатого (Achyrantes aspera) [272], произрастающего в Эфиопии и используемого местным населением для лечения множества различных заболеваний и ран. Полученный сапонин был назван в ИЮПАК β-D-глюкопиранозил-3β-[*О*-β-Dсоответствии с номенклатурой галактопиранозил- $(1 \rightarrow 2)$ -*О*- α -D-глюкуронопиранозилокси] махеринатом. Еще один тритерпеновый сапонин, содержащий остаток α-D-GlcA, получивший название Ардизикренозид I и проявляющий цитотоксическую активность в отношении опухолевых клеток человека линий HCT-8, Bel7402, BGC-823, A549, A2780 и КЕТКЗ, был выделен из корней городчатой ардизии (Ardisia crenata) [273]. Наконец, еще один тритерпеновый сапонин, содержащий остаток α-D-GlcA, был выделен из другого вида ардизии (Ardisia pusilla) [274] и получил название Ардипусиллозид (ardipusillosides) и номер IV, поскольку является четвертым по счету сапонином, выделенным из данного вида растений. Было показано, что данный сапонин проявляет цитотоксическую активность по отношению к клеткам глиобластомы человека U251MG.

Имеются сообщения о присутствии в ряде растений флавоноида, содержащего в своем составе остаток α-D-GlcA. Это 3-*O*-α-D-глюкуронокверцетин (Рис. 55), выделенный из ветреницы дубравной (Anemone nemorosa) [275], циклокарии (Cyclocarya paliurus) [276] и саркандре (Sarcandra glabra) [277]. Производные 3-Оα-D-глюкуронокверцетина были выделены и из других растений, HO без установления конфигурации гликозидной связи. Эти работы нами не рассматриваются, так как известен 3-*О*-β-D-глюкуронокверцетин, который гораздо более распространен в природе, чем его α-D-глюкуроновый изомер.



Рис. 55. 3-О-а-D-Глюкуронокверцетин.

В завершении этого раздела обзора упомянем еще одно интересное соединение, имеющее в своем составе остаток α-D-GlcA - уридин-5-дифосфо-α-Dглюкуроновую кислоту (UDP-глюкуроновая кислота, Рис. 56), образующуюся в клетках живых организмов из UDP-глюкозы под действием UDP-глюкоз-6дегидрогеназы при участии NAD+ в качестве кофактора. UDP-глюкуроновая кислота является источником глюкуроновой кислоты при биосинтезе различных структур, содержащих глюкуроновую кислоту. При этом из уридин-5-дифосфо-α-D-глюкуроновой кислоты образуются соединения с β-глюкуронидной связью. Кроме того, UDP-GlcA участвует в качестве интермедиата и в биосинтезе аскорбиновой кислоты (витамина C). В виду важности данного соединения в живых системах, его биохимическим исследованиям посвящено достаточно много статей и обзоров [278-280].



Рис. 56. Уридин-5-дифосфо-а-D-глюкуроновая кислота.

2.4 Заключение

В целом, стоит отметить, что остатки α-D-GlcA присутствуют в большом количестве крайне интересных структур, относящихся как к полисахаридам, так и к низкомолекулярным гликоконъюгатам. Биологические свойства, которыми зачастую обладают данные соединения, объясняют научный интерес, как к ним, так и к химии глюкуроновой кислоты в целом. В частности, КПС и О-антигены могут являться основой при разработке антибактериальных вакцин, а фукоиданы и многие другие соединения, включающие звено α-D-GlcA, обладают целым рядом перспективных видов биологической активности, достаточных для разработки на основе лекарственных препаратов. При этом круг известных видов ИХ биологической активности данных веществ с каждым годом расширяется. Кроме того, механизмы биологической активности многих соединений обсуждаемого ряда еще до конца не изучены, но уже полученные результаты позволяют

рассчитывать на наличие у них ценных свойств, а значит, и на перспективу использования в медицине и других областях.

В связи с этим, перспективной является разработка эффективных и стереоизбирательных методов синтеза соответствующих олигосахаридов, содержащих α-D-GlcA, поскольку такие производные являются удобными моделями при изучении механизмов биохимического действия фукоиданов и выявлении фармакофорных фрагментов в их структуре.

 α -D-GlcA, Синтез олигосахаридов, содержащих остаток является нетривиальной задачей, поскольку до сих пор не разработано эффективных универсальных подходов к построению 1,2-цис-гликозидной связи в случае реакций α-D-глюкуронирования. Наиболее распространенным подходом при синтезе подобных структур является введение остатка α-D-глюкозы с последующим ее окислением до глюкуроновой кислоты [281]. Кроме того, можно отметить ряд успешных примеров [282] прямого введения глюкуроновой кислоты с использованием стереоконтролирующего эффекта соучаствующей ацильной защиты при О-3 в глюкуроновом доноре. В настоящее время именно этот подход используется нами при получении олигосахаридов, отвечающих структуре гетеросахаридных фукоиданов и ряда бактериальных полисахаридов.

Часть 3.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В качестве объектов синтеза были выбраны несульфатированные 1, 3, 5, 8, избирательно сульфатированные 7, 10 и полностью сульфатированные 2, 4, 6, 9 тетра- и пентасахариды (Рисунок 57), построенные из остатков α -L-фукопиранозы, α -D-глюкуроновой кислоты и α -L-фукофуранозы, родственные разветвленным участкам фукоидана из водоросли *C. flagelliformis*.



Рис. 57. Фрагмент фукоидана из водоросли *C. flagelliformis* и целевые олигосахариды 1-10.

3.1. Ретросинтетический анализ целевых соединений

На первом этапе работы нами был проведен ретросинтетический анализ целевых олигосахаридов. Важно отметить, что все моносахаридные остатки в олигосахаридах **1-10** соединены 1,2-*цис*-(α)-гликозидными связями, поэтому для их

сборки необходимо было использовать блоки, содержащие несоучаствующие защитные группы при *O*-2. Кроме того, для стереоизбирательного построения αгликозидных связей планировалось использовать эффект соучастия ацильных заместителей, удаленных от аномерного центра гликозил-донора, который активно исследуется в нашей лаборатории. На Рисунке 58 представлены примеры нестабилизированного (**I**) и стабилизированных (**II** и **III**) гликозил-катионов. Видно, что нуклеофильная атака катионов **II** и **III** возможна только с α-стороны. Для каждого конкретного гликозил-катиона методом молекулярной механики (MM+) выполнен расчет величины энергии стабилизации (E_{стаб.}), которая представляет собой разность энергий нестабилизированного и стабилизированного катионов.



Рисунок 58. Нестабилизированный (I) и стабилизированные (II и III) гликозилкатионы.

По результатам ретросинтетического анализа целевые соединения были разделены на две группы исходя из общности путей их получения. В первую группу вошли тетрасахариды 1-4, которые планировалось получать методом блочного синтеза по схемам [2+2] (Рисунок 59). В случае тетрасахаридов 1, 2 в качестве дисахаридных блоков были выбраны гликозил-донор 11 и гликозилакцептор 12, а сборку углеводного скелета тетрасахаридов 3, 4 планировалось провести с использованием дисахаридов 13 и 14. При этом (1 \rightarrow 3)-связанный дисахаридный донор 11 мог быть получен из дифукозидного акцептора 13, а (1 \rightarrow 2)-связанный дисахаридный донор 14 планировалось получать из гликозилакцептора 12. Таким образом, число исходных структур было сокращено до двух (соединения 12 и 13), при этом методы их синтеза были ранее отработаны в нашей лаборатории [282a, 283].



Рисунок 59. Ретросинтетический анализ целевых тетрасахаридов 1-4.

Во вторую группу вошли тетрасахариды 5-7 и пентасахариды 8-10 (Рисунок 60). Для получения соединений этой группы планировалось использовать дифукозид 15, содержащий две ортогональные защитные группы: napaметоксибензильную (MBn) при O-2' и хлорацетильную (CA) при O-3'. Такая расстановка защитных позволяет избирательно высвобождать групп гидроксильные группы и последовательно вводить гликозильные остатки. В случае тетрасахаридов 5-7 планировалось сначала ввести остаток глюкуроновой кислоты с 16, использованием гликозил-донора а затем остаток фукопиранозы с использованием фукозил-донора 17.

В ходе синтеза пентасахаридов 8-10 в качестве глюкуронил-донора планировалось использовать трихлорацетимидат 18, содержащий трет-бутилдиметилсилильную защитную группу при О-4. Это позволяет избирательно ввести с использованием гликозил-донора 19. остаток фукофуранозы Введение фукопиранозного заместителя в третье положение центрального фукозного остатка сборки осуществляется на завершающей стадии углеводного скелета С использованием фукозил-донора 17.

53



Рисунок 60. Ретросинтетический анализ целевых сахаридов 5-10.

3.2. Синтез целевых тетрасахаридов 1-4

Дисахаридные предшественники 12 [283] и 13 [282а] были синтезированы по отработанным ранее схемам исходя из аллил- α -L-фукопиранозида. Далее для получения гликозил-донора 11 проводили ацетилирование дисахарида 13 с образованием дифукозида 20, в котором затем была удалена аллильная группа с аномерного центра действием PdCl₂ в метаноле, после чего образующийся полуацеталь переводили в соответствующий трихлорацетимидат 11 обработкой CCl₃CN в присутствии Cs₂CO₃ (Схема 1).



Схема 1.

Сочетание дисахаридного акцептора 12 и гликозил-донора 11 в присутствии ТМSOTf привело к образованию тетрасахарида 21 с выходом 82% (Схема 2). α-Конфигурация образованной гликозидной была подтверждена связи характеристичной величиной константы спин-спинового взаимодействия (КССВ) $J_{1-2} = 3.6 \ \Gamma$ ц в ¹H-ЯМР спектре. Необходимо отметить, что в результате реакции не было зафиксировано следов β-изомерного продукта. Стереохимический результат реакции объясняется стабилизацией гликозил-катиона за счет анхимерного содействия бензоильного заместителя при О-4, вследствие чего, нуклеофильная атака катиона возможна только с α-стороны. Аналогичные эффекты были отмечены ранее для моно- и дисахаридных фукозил-доноров, использованных в ходе синтеза гомофукозидов [282a, 283]. Величина Е_{стаб.} для катиона типа **II** (см. Рисунок 57) составила 5,8 ккал/моль.



Схема 2. (i): 1. H₂, Pd/C, 2. NaOH 2N_(aq.), MeOH; (ii): Py·SO₃, HSO₃Cl, DMF.

Гидрогенолиз полученного тетрасахарида **21** с последующим омылением приводили к целевому тетрасахариду **1** с выходом 87% (Схема 2). Для получения полностью сульфатированного производного **2** были использованы условия реакции кислотно-промотируемого сульфатирования, разработанной в нашей лаборатории ранее [257d]. В результате действия комплекса Ру SO₃ в присутствии HSO₃Cl тетрасахарид **1** был переведен в соединение **2** с выходом 79%.

Для получения гликозил-донора 14 проводили бензоилирование синтезированного ранее дисахарида 12 с образованием дифукозида 22, в котором затем была удалена аллильная группа с аномерного центра действием PdCl₂ в метаноле, после чего полученный полуацеталь переводили в соответствующий трихлорацетимидат 14 (Схема 3).



Схема 3.

Сочетанием дисахаридов 13 и 14 в присутствии TMSOTf был получен тетрасахарид 23 с выходом 75% (Схема 4). Как и в случае синтеза тетрасахарида 21, в ходе реакции образовывался только необходимый α-изомер. Величины энергии стабилизации для катионов типов II и III составили 11,2 ккал/моль и 4,8 ккал/моль, соответственно. Гидрогенолиз тетрасахарида 23 с последующим омылением приводили к целевому тетрасахариду 3 с выходом 86%. Сульфатированием соединения **3** в присутствии хлорсульфоновой кислоты был получен полностью сульфатированный продукт **4** с выходом 82%.



Схема 4. (i): 1. H₂, Pd/C, 2. NaOH 2N_(aq.), MeOH; (ii): Py·SO₃, HSO₃Cl, DMF.

3.3. Синтез целевых тетрасахаридов 5-7 и пентасахаридов 8-10

3.3.1. Синтез дифукозида 15

Для синтеза ключевого дисахаридного блока 15 был использован доступный аллил-α-L-фукопиранозид 24. Из этого соединения были получены моносахаридные гликозил-акцепторный 25 и гликозил-донорный 27 блоки (Схема 5). Триол 24 первоначально переводили в циклический 3,4-ортоэфир, который далее 2-О-бензилировали с образованием промежуточного сполна защищенного производного. Далее следовала стадия региоизбирательного раскрытия ортоэфира с высвобождением экваториальной гидроксильной группы при С-3 с образованием продукта 25. Превращение 24→25 было выполнено в одну операционную стадию с выходом 85%. Наличие бензоильного заместителя при О-4 в структуре соединения 25 было подтверждено слабопольным сдвигом сигнала протона *H*-4 в спектре ¹Н ЯМР (3,88 м.д. → 5,47 м.д.).

Для синтеза гликозил-донора 27 аллилфукозид 24 был вовлечен в схожую последовательность превращений, за исключением того, что вместо бензильной группы была использована *пара*-метоксибензильная группа (MBn) (Схема 5). Последующее хлорацетилирование продукта приводило к полностью защищенному производному 26, в котором затем была удалена аллильная группа с аномерного центра действием PdCl₂ в метаноле, после чего полученный

полуацеталь переводили в соответствующий трихлорацетимидат **27** обработкой CCl₃CN в присутствии Cs₂CO₃.



Схема 5. (i): 1. PhC(OMe)₃, CSA, DMF 2. NaH (60%), BnBr 3. AcOH (80% aq.); (ii): 1. PhC(OMe)₃, CSA, DMF, 2. NaH (60%), MBnCl, Bu₄NI 3. AcOH (80% aq.) 4. CACl, Py; (iii): 1. PdCl₂, MeOH, 2. CCl₃CN, Cs₂CO₃.

Гликозилирование моносахаридного акцептора 25 фукозил-донором 27 в присутствии TMSOTf приводило к образованию необходимого α -изомера 28 с выходом 95% (Схема 6), что подтверждалось величиной соответствующей КССВ J_{1-2} (3,6 Гц). Как и в случае описанных выше реакций гликозилирования, стереохимический результат данной реакции обусловлен анхимерным содействием ацильных групп при *O*-3 и *O*-4 в гликозил-доноре 27. Величины энергии стабилизации для катионов типов II и III составили 4,3 ккал/моль и 12,4 ккал/моль, соответственно.



Схема 6.

3.3.2. Синтез глюкуронил-доноров 16 и 18

Исходным соединением для получения бензилированных глюкуронилдоноров **16** и **18** был доступный пентаацетат β-D-глюкозы **28**. Действием аллилового спирта в присутствии эфирата трехфтористого бора был получен ацетилированный аллил-β-D-глюкозид, после чего действием метилата натрия в метаноле ацетильные группы были удалены (Схема 7). В результате с выходом 75% был получен тетраол 29. Избирательная защита первичной гидроксильной группы в соединении 29 была выполнена действием трифенилметилхлорида (тритилхлорида) В присутствии пиридина, следовали затем стадии бензилирования И исчерпывающего детритилирования с образованием моногидроксильного производного 30 с выходом 78%. Окисление гидроксильной группы в соединении 30 было проведено с использованием мягкой окислительной 2,2,6,6-тетраметил-1-пиперидинилоксил (TEMPO) системы: бис(ацетокси)йодбензол (BAIB). Последующее метилирование полученной глюкуроновой кислоты действием метилйодида в присутствии карбоната калия приводило к метилглюкурониду 31 с выходом 89% на 2 стадии. Деаллилирование и перевод полученного полуацеталя в трихлорацетимидат приводили к глюкуронилдонору 16 с выходом 78%.



Схема 7. (i): 1. TrCl, Py, DCM 2. NaH (60%), BnBr, DMF 3. TFA (90% aq.), DCM; (ii): 1. BAIB, TEMPO, DCM/H₂O, 2. MeI, K₂CO₃, DMF; (iii): 1. PdCl₂, MeOH, 2. CCl₃CN, Cs₂CO₃.

Для получения глюкуронил-донора 18 тетраол 29 был сначала переведен в 4,6-бензилиденовое производное, бензилирование которого с последующим удалением бензилиденовой защиты в условиях кислотного гидролиза дало диол 32 с выходом 73% (Схема 8). Региоизбирательное окисление первичной гидроксильной группы в соединении 32 было выполнено с использованием системы ТЕМРО–ВАІВ. После метилирования карбоксильной группы был выделен метилглюкуронид 33 с выходом 84% на 2 стадии. Далее свободная гидроксильная группа при *C*-4 была защищена *трет*-бутил-диметилсилильной группой (TBDMS),

что приводило к моносахариду **34**, из которого по отработанной схеме был получен глюкуронил-донор **18** с выходом 72%.



Схема 8. (i): 1.PhCH(OMe)₂, CSA, DMF, 2. NaH (60%), BnBr, 3. TFA (90% aq.); (ii): 1. BAIB, TEMPO, DCM/H₂O, 2. MeI, K₂CO₃, DMF; (iii): 1. PdCl₂, MeOH, 2. CCl₃CN, Cs₂CO₃.

3.3.3. Синтез целевых тетрасахаридов 5-7

Для получения дисахаридного гликозил-акцептора **35** в соединении **15** была удалена *пара*-метоксибензильная группа в условиях кислотного гидролиза (Схема 9). Сочетание дисахарида **35** и глюкуронил-донора **16** приводило к смеси изомерных трисахаридов **36** с выходом 78%. Соотношение α : β изомеров в смеси составило 5:1, что было установлено по соотношению интегральных интенсивностей сигналов H-1 остатков глюкуроновой кислоты (сигналы H-1^{α GlcA} $J_{1,2} = 3,9$ Hz, H-1^{β GlcA} $J_{1,2} = 7,6$ Hz).



Схема 9. (i): ТFA (90% aq.), DCM; (ii): TMSOTf, DCM, -30°С.

Преимущественное образование α-изомера в ходе реакции глюкуронилирования объяснялось стабилизацией гликозил-катиона карбометоксильной группой (Рисунок 61). Величина энергии стабилизации катиона составила 6,5 ккал/моль.



Рисунок 61.

Удалением хлорацетильной группы в **36** действием тиомочевины в присутствии коллидина был получен α -изомерный трисахарид **37**, содержащий свободную гидроксильную группу при С-3' (Схема 10). Исходя из аллил-фукозида **24** в 2 операционные стадии был получен фукозил-донор **17**. Сочетание трисахарида **37** и моносахарида **17** приводило исключительно к α -связанному тетрасахариду **39** с выходом 91%. Конфигурация образованной гликозидной связи была установлена на основании величины соответствующей КССВ J_{1-2} (3,7 Гц). Как и в случае описанных выше реакций гликозилирования, стереохимический результат данной реакции обусловлен анхимерным содействием ацильных групп при *О*-3 и *О*-4 в гликозил-доноре **17**. Величины энергии стабилизации для катионов **II** и **III** составили 6,2 ккал/моль и 11,1 ккал/моль, соответственно.



Схема 10. (i): SC(NH₂)₂, 2,4,6-Collidine, MeOH, (ii): 1. PhCH(OMe)₂, CSA, DMF, 2. NaH (60%), BnBr, 3. TFA (90% aq.), 4. CACl, Py; (iii): 1. PdCl₂, MeOH, 2. CCl₃CN, Cs₂CO₃; (iv): TMSOTf, DCM, -30°C; (v): 1. H₂, Pd/C, 2. NaOH 2N_(aq.), MeOH; (vi): 1. NaOH 2N_(aq.), THF, MeOH, 2. Py·SO₃, DMF, 3. H₂, Pd/C; (vii): Py·SO₃, DMF.

Из соединения 39 были получены целевые тетрасахариды 5-7. Удаление всех ацильных групп в 39, сульфатирование свободных гидроксильных групп в полученном продукте и последующий гидрогенолиз приводили к избирательно сульфатированному тетрасахариду 7 с выходом 81%. Удалением всех защитных групп в 39 был получен несульфатированный тетрасахарид 5 с выходом 91%. Однако введение данного тетрасахарида в реакцию кислотно-промотируемого отличие тетрасахаридов 1, 3, сульфатирования, В ОТ сопровождалось изомеризацией субстрата. В результате нами была выделена смесь целевого сполна сульфатированного тетрасахарида 6 и изомерного ему продукта 6f (Рисунок 62).



Рисунок 62.

Для контроля над прохождением реакции с целью избежать изомеризации нами был проведен эксперимент в ампуле с контролем методом ЯМРспектроскопии. Данный эксперимент показал, что изомеризация начинает протекать еще на стадии не до конца сульфатированного продукта. Для ингибирования изомеризации нами была проведена реакция сульфатирования без кислоты, но она привела к смеси частично сульфатированных продуктов. Анализ ЯМР-спектров показал, что несульфатированными остаются наиболее стерически затрудненные 4-О-группы центрального и терминального восстанавливающего остатков фукозы. Поэтому нами была предпринята попытка досульфатирования частично сульфатированного тетрасахарида 7, в котором наиболее затрудненные 4-0 группы уже просульфатированны. И действительно, сульфатирование тетрасахарида 7 в отсутствие кислоты дало нам целевой сполна сульфатированный тетрасахарид 6 с выходом 80% (Схема 10).

3.3.4. Получение фукофуранозных синтетических блоков

Целевые пентасахариды **8-10** содержат α-L-фукофуранозный остаток при *O*-4 глюкуроновой кислоты. В связи с этим, для их синтеза необходимо было разработать эффективный метод получения фукофуранозного блока. Следует отметить, что для фукозы термодинамически более выгодной является пиранозная форма, а перевод ее в фуранозную форму представляется нетривиальной задачей.

Ранее в данной работе нами наблюдалась изомеризация фукопиранозы в фукофуранозу при кислотно-промотируемом сульфатировании тетрасахарида 5. Подобные побочные реакции в присутствии кислот наблюдались в нашей лаборатории И ранее при изучении реакций сульфатирования других олигосахаридов [257d]. Так, при сульфатировании дисахарида, построенного из (1→3)-связанных α-L-фукопиранозных остатков, в присутствии хлорсульфоновой кислоты при 0°С наблюдалась перегруппировка восстанавливающего остатка в фуранозную форму (Схема 11). С учетом полученных результатов, было решено разработать препаративный метод синтеза фукофуранозидных производных, основанный на реакции кислотно-промотируемого сульфатирования.



Схема 11.

Первоначально возможность проведения пиранозид-фуранозидной перегруппировки была изучена на примере доступного аллил-α-L-фукопиранозида 24. Однако кислотно-промотируемое сульфатирование 24 в присутствии хлорсульфоновой кислоты приводило только к полностью сульфатированному фукопиранозиду 42 (Схема 12). Повышение температуры до 50°С и увеличение времени реакции с 1 до 3 суток также не позволило получить желаемый фуранозидный продукт.

Для изучения возможной роли заместителя при О-3 в аллил-фукозиде 24 на протекание пиранозид-фуранозидной перегруппировки были синтезированы производные 43 и 44, содержащие объемные заместители при О-3: третбутилдифенилсилильную (TBDPS) и бензоильную группы соответственно. Для их получения аллил-фукозид 24 региоизбирательно силилировали под действием TBDPSC1 в присутствии имидазола, в результате чего с выходом 61% было производное 43. Региоизбирательное бензоилирование получено 24 через промежуточное образование оловоорганического интермедиата позволило получить моносахарид 44 с выходом 53%. К сожалению, кислотно-промотируемое сульфатирование соединений 43, 44 также не привело к желаемым фуранозидным производным И единственными продуктами являлись исчерпывающе сульфатировенные пиранозиды 45 и 46.



Схема 12. (i): Ру·SO₃, HSO₃Cl, DMF

Потерпев неудачу с перегруппировкой аллил-α-L-фукопиранозидов, мы решили изучить возможность синтеза фукофуранозидов исходя из β-изомерных моносахаридов. Следует отметить, что аллил-β-L-фукопиранозид **47** не является доступным соединением, поэтому вначале нам было необходимо разработать эффективный метод его синтеза. В процессе работы было реализовано два пути получения аллил-β-L-фукопиранозида **47** из L-фукозы **48** (Схема 13).

Первый путь включал в себя четыре последовательных стадии. Сначала Lфукозу **48** ацетилировали действием уксусного ангидрида в присутствии пиридина, после чего переводили в α -бромид **49** по стандартной методике. Затем соединение **49** вводили в реакцию с аллиловым спиртом в присутствии трифлата серебра (TfOAg), в результате чего образовывался исключительно β -изомерный продукт, который действием метилата натрия в метаноле переводили в необходимый аллил- β -L-фукопиранозид **47** (J_{1-2} =7,7 Гц). Общий выход превращения, исходя из Lфукозы, составил 21%.

Второй путь включал полное бензоилирование L-фукозы с образованием продукта **50**, в котором действием морфолина в ацетоне удаляли бензоильную защитную группу в аномерном положении. Полученный полуацеталь переводили в соответствующий трихлорацетимидат **51**, который вводили в реакцию с аллиловым спиртом в присутствии TMSOTf. Данная реакция, также как и в случае гликозил-бромида **49**, протекала стереоспецифично с образованием β-продукта, который действием метилата натрия в метаноле переводили в необходимый аллил-β-L-фукопиранозид **47**. Общий выход превращения, исходя из L-фукозы, составил 25%.

Помимо аллил-β-L-фукопиранозида **47** было синтезировано его производное **52**, содержащее бензоильную группу при *O*-3. Для этого соединение **47** вводили в реакцию с бензоилхлоридом в присутствии 2-аминоэтоксидифенил бората (2-APB) [284]. В результате происходило региоспецифичное образование 3-*O*-бензоилированного производного **52** с выходом 97%.



Схема 13. (i): 1. Ac₂O, Py, 2. HBr/AcOH, Ac₂O; (ii): 1. AllOH, TfOAg, 2. MeONa, MeOH; (iii): 1. Морфолин, ацетон, 2. CCl₃CN, Cs₂CO₃; (iv): 1. AllOH, TMSOTf, 2.MeONa, MeOH.

Полученные аллил-β-L-фукопиранозиды 47 и 52 были введены в реакцию кислотно-промотируемого сульфатирования. В результате по прошествии 24 часов пиранозиды практически нацело перегруппировывались исходные В соответствующие аллил-β-L-фукофуранозиды 53 и 54, конверсия по данным ЯМР превышала 90% (Схема 14). Таким образом, нами впервые была показана возможность препаративной перегруппировки моносахарида Fuc*p*→Fuc*f*. Кроме того, мы выявили факт зависимости между конфигурацией аномерного центра перегруппировки углевода И возможностью его В условиях кислотнопромотируемого сульфатирования, что является важным наблюдением для дальнейшего изучения механизма данной реакции.



Схема 14. (i): Ру·SO₃, HSO₃Cl, DMF, 24 ч.

На следующем этапе была проведена оптимизация условий реакции, направленная на минимизацию количества сульфатирующих реагентов (Py SO₃-HSO₃Cl).

Нами была исследована зависимость выхода перегруппировки от количества эквивалентов сульфатирующих реагентов. В данной серии экспериментов использовалось фиксированное мольное соотношение реагентов Py SO₃:HSO₃Cl (2.5:1), для которого ранее в нашей лаборатории была показана наибольшая пиранозид-фуранозидной эффективность В реакции перегруппировки. Реакционные смеси, содержащие различные количества сульфатирующих реагентов, выдерживали по 2 ч., после чего реакцию заканчивали добавлением избытка NaHCO₃. Выход перегруппировки определялся по характеристичным пикам и их интегральным значениям в ¹H-ЯМР спектре. Полученные результаты представлены в таблице 1. На основании этих данных видно, что при добавлении 0.63 и 1.3 эквивалентов сульфатирующих реагентов на ОН-группу, ЧТО соответствует 1.35 и 0.55 эквивалентам Ру SO₃ и HSO₃Cl на одну молекулу углевода в первом случае и 2.7 и 1.1 эквивалентам во втором, количества реагентов явно недостаточно даже для полного сульфатирования всего количества исходной пиранозы и фуранозиды в реакционной смеси практически отсутствуют. В то же время, в случае 2.6 и 3.7 эквивалентов сульфатирующих реагентов на ОН-группу, этого количества реагентов достаточно для исчерпывающего сульфатирования, что приводит резкому увеличению количества фукозы, подвергшейся К перегруппировки до 60% и 86% соответственно (Рисунок 63). Это так же показывает критичность степени сульфатирования углевода при его перегруппировки.

Таблица 1. Влияние количества сульфатирующих реагентов на выход фуранозидного продукта.



Ν	Количество эквивалентов сульфатирующих реагентов (Ру SO3:HSO3Cl) на OH-группу	Выход 53 (%)
1	0,63	~1
2	1,3	7
3	2,6	60
4	3,8	89
5	7,5	93



Рисунок 63. График зависимости выход фуранозидного продукта от количества сульфатирующих реагентов.

На основании полученных данных оптимальным количеством реагентов было признано соотношение 2.7 экв. Ру SO₃ и 1.1 экв. HSO₃Cl на OH-группу. Такие соотношения реагентов обеспечивают наиболее полное сульфатирование и сравнительно короткое время реакции. При этом избыток реагентов минимален, что позволяет использовать меньшее количество соды для нейтрализации раствора после завершения реакции и сводит к минимуму количество образующихся в результате этого солей, что упрощает выделение продукта из реакционной смеси.

Подобрав оптимальные количества реагентов, мы перешли к определению времени, необходимого для максимально полного протекания реакции в данных условиях. Для этой цели была поставлена серия экспериментов, в которой β-аллилфукопиранозид 47 подвергали перегруппировки в определенных выше условиях в течение 1, 2, 3 и 4 часов. Затем реакция останавливалась путем добавления избытка соды, и выход фуранозида определялся по характеристичным пикам и их интегральным значениям в ¹Н-ЯМР спектре. Уже в реакционной смеси, которую выдерживали всего час, выход фуранозида составил 84%. Дальнейшее увеличение времени реакции увеличивало выход реакции и практически полной конверсии удалось достичь через 4 часа (Табл. 2). Хотя точность контроля ограничивалась погрешностью интегрирования ЯМР сигналов, мы можем утверждать, что уже после 2 часов выход реакции достигает значения близкого к максимальному. На основании этих данных мы можем назвать оптимальными для проведения реакции пиранозид-фуранозидной перегруппировки следующие условия: 2.7 экв. Ру SO₃ и 1.1 экв. HSO₃Cl на OH-группу субстрата при концентрации раствора исходного сахара в ДМФА 20 мг/мл и времени реакции 2 часа. Именно при таких условиях осуществлялись все подобные реакции в дальнейшем.

Таблица 2. Влияние времени реакции на выход фуранозидного продукта 53.

		Me、、OS
	Py [.] SO ₃ (8.1 eq), HSO ₃ CI (3.3 eq)	
ОН	> DMF	OAII
HO 47		OS
		53 S=SO ₃ Na

Время реакции, (ч)	1	2	3	4
Выход (53), (%)	84	89	92	98

Как было сказано выше, выход перегруппировки определялся с помощью ¹Н-ЯМР спектроскопии. При этом нами были выделены характеристичные пики, позволяющие облегчить этот процесс. Такими пиками оказались сигналы метильного фрагмента *H*-6. Они заметно отличаются по значениям своих химических сдвигов для пиранозы и фуранозы, а кроме того отстоят от других сигналов спектра, что позволяет точно контролировать их присутствие/отсутствие в спектре. Значения химических сдвигов характеристичных сигналов, а так же фрагменты спектров представлены в таблице 3. Кроме того, по интегральным значениям этих пиков спектра определяется соотношение между пиранозой и фуранозой в полученной смеси.



Таблица 3. Характеристичные хим. сдвиги и пример спектра.

В результате проделанной работы нами были подобраны оптимальные условия реакции: минимизировано количество реагентов, снижено время протекания реакции. Были достигнуты высокие выходы исчерпывающе сульфатированного фуранозидного продукта. Однако для успешного применения данной реакции в препаративном синтезе фукофуранозидных блоков нам необходимо было решить еще одну проблему – разработать эффективный метод десульфатирования.

Нами была изучена возможность применения различных литературных методов удаления или замещения сульфатных групп для десульфатирования фукофуранозидных производных (Схема 15). Так, обработка моносахарида **53**

избытком *бис*-(триметилсилил)-амина согласно литературной методике, разработанной для полисахаридов [285], не приводила к химической реакции, а при повышении температуры выше 80°С наблюдалось расслоение смеси с выпадением в нижний слой продуктов осмоления. Таким образом, данный метод был признан неудачным.

Другой метод [286] заключается в замещении сульфатных групп на ацетатные и предполагает обработку сульфатированного соединения смесью уксусной кислоты и уксусного ангидрида в присутствии каталитических количеств серной кислоты. В отличие от предыдущего метода, данная реакция быстро и с отличным выходом приводила к десульфатированному продукту. Однако помимо сульфатных групп, ацетолизу также подверглась аллильная группа в аномерном положении. Таким образом, основным продуктом реакции являлась сполна ацетилированная фукофураноза 57. При этом потеря аллильной группы в C-1 положении сопровождалась еще и изомеризацией по аномерному центру, результатом которой становилась смесь α - и β -продуктов. Это приводило к необходимости дополнительных стадий введения в аномерное положение временной защитной группы. Все эти факторы заставили нас отказаться от использования данного метода как препаративного и перейти к поиску других методов.

Метод сольволитического десульфатирования [287] заключается в удалении сульфатных групп при нагревании раствора сульфатированного соединения в таких растворителях, как диоксан или диметилсульфоксид. Вначале нами была предпринята попытка десульфатирования по стандартной методике [287] в присутствии комплекса Ру HCl в смеси растворителей диоксан:метанол (9:1). Однако в результате была получена сложная смесь продуктов, из которой не удалось выделить требуемый десульфатированный фуранозид **55**.

Другая методика сольволитического десульфатирования предусматривала использование смеси растворителей диоксан:ДМФА в соотношении 5:1 и ионообменной смолы IR-120(H⁺). Выдерживание реакционной смеси в течение 30 минут при 50°С приводило к удалению всех сульфатных групп и образованию требуемого моносахарида **55** с выходом 82%. Повышение температуры выше 50°С либо выдерживание реакционной смеси более 30 минут приводит к резкому росту

70

количества побочных продуктов, в первую очередь, продуктов деаллилирования. Это, естественно, негативным образом сказывается на выходе целевого продукта. В связи с этим, проведение данной реакции требует большой осторожности. Тем не менее, простота и высокий выход позволяют использовать данный метод в связке с перегруппировкой-сульфатированием. Именно он был использован в дальнейшем при синтезе необходимых производных фукофуранозы.



Схема 15.

Описанные выше два метода получения β-аллилфукопиранозы 47 (Схема 13) довольно трудоемки, требуют проведения нескольких стадий и характеризуются недостаточно высоким общим выходом целевого продукта. В связи с этим, для получения В-аллил-фукопиранозида нами была использована одностадийная методика прямого аллилирования фукозы 48 в водном растворе под действием аллилбромида в присутствии гидроксида натрия (Схема 16) [288]. Продуктом такой реакции является смесь α- и β-аллилфукопиранозидов в соотношении 1:5 58. Данная смесь не разделяется методами колоночной хроматографии и ВЭЖХ, однако полученные в ходе изучения перегруппировки фукопиранозидов данные об устойчивости α-аллилфукопиранозида в условиях реакции перегруппировки разделение смеси после позволяли рассчитывать на стадии пиранозидфуранозидной перегруппировки. Смесь аномеров 58 была введена в реакцию селективного 3-О-бензоилирования под действием бензоилхлорида в присутствии ди-изо-пропилэтиламина и 2-АРВ, что позволило нам получить производное 59 с выходом 97%. Данный способ, как и в случае 3-О-бензоил-α-аллилфукозида 52,

помимо великолепного выхода показывает и полную региоселективность реакции. После этого оба соединения **58**, **59** были введены в реакцию пиранозидфуранозидной перегруппировки. В результате, после десульфатирования в обоих случаях была получена смесь α-изомерного пиранозида и β-изомерного фуранозида. Подобные изомеры, как мы и предполагали, легко разделяются методом колоночной хроматографии. В результате из смесей посредством хроматографии нами были выделены чистые β-аллилфукопиранозид **55** и β-аллил-3-*О*-бензоил-фукопиранозид **60**, которые затем были введены в реакцию бензилирования в присутствии оксида серебра. После этого в обоих соединениях были удалены аллильные защитные группы, а затем полученные полуацетали переводили в трихлорацетоимидатные производные. В результате нами было синтезировано два фукофуранозных донора **19, 61**, причем в обоих случаях образовывались исключительно β-изомеры (Схема 16).



Схема 16. (i): BzCl, (*i*-Pr)₂NEt, 2-APB; (ii): 1. Py SO₃, HSO₃Cl, DMF, 2. NaHCO₃, 3. Py HCl, DMF-Dioxane; (iii): 1. BnBr, Ag₂O, 2. PdCl₂, MeOH, 3. CCl₃CN, Cs₂CO₃.

Ha следующем этапе приступили изучению реакции ΜЫ к фукофуранозилирования, причем В качестве модельного акцептора ΜЫ использовали глюкуронат 33, полученный нами ранее, а в качестве доноров трихлорацетимидаты 19, 61 (Схема 17). При сочетании трибензилированного донора 61 и акцептора 33 в результате реакции образовывалась смесь α- и βпродуктов в соотношении 2:1 в пользу продукта с В-связью. А в случае использования донора 19, содержащего в 3-О-положении бензоат, результат
реакции менялся кардинальным образом. В данном случае соотношение α- и βизомеров составило 6:1, но уже в пользу α-продукта.



Схема 17.

Соотношение изомеров в данном эксперименте определялось с помощью ¹Н-ЯМР спектроскопии по соотношению интегралов интенсивности характеристичных пиков соответствующих изомеров в смеси, полученной при гликозилировании. В случае эксперимента с 3-О-бензоилированным донором 19 смесь после анализа разделялась методом колоночной хроматографии. Отнесение набора сигналов к тому или иному изомеру производилось с помощью анализа пиков аномерных протонов фукофуранозного кольца H-1 Fuc. Для α -изомера это дуплет с константой спин-спинового расщепления $J_{1,2} \sim 4$ Гц со сдвигом 5.20-5.35 м.д., а для β-изомера это синглет со сдвигом 5.50-5.60 м.д., поскольку в β-изомере, в отличие от α, отсутствует взаимодействие между *H*-1 и *H*-2 протонами фукофуранозного кольца. Данный набор фактов значительно упрощает анализ и идентификацию соответствующих изомеров фукофуранозы.

Принципиальная разница В стереоизбирательности реакций гликозилирования донорами 19 и 61 объяснялась удаленным соучастием бензоильной группы из третьего положении (Рисунок 64). В фукофуранозе, так же как и в фукопиранозе, ацильная защитная группа при О-3 может стабилизировать карбокатион, образующийся в процессе реакции гликозилирования. Рассчитанная величина энергии стабилизации составила 5,4 ккал/моль. Таким образом, была впервые показана возможность удаленного соучастия ацильного заместителя в структуре фукофуранозного донора. Данные результаты являются важным элементом в работе по изучению химии не только ϕ_{yko} фуранозы, но и всех фуранозидов в реакции гликозилирования.



Рисунок 64.

3.3.5. Синтез целевых пентасахаридов 8-10

Полученный ранее при сборке целевых тетрасахаридов **5-7** акцептор **35** был введен в реакцию гликозилирования с глюкуронильным донором **18**, содержащим ортогональную защитную группу (TBDMS). В результате этой реакции с выходом 87% образуется смесь изомерных трисахаридов **64** в соотношении α : β =4:1, которое было установлено по соотношению интегральных интенсивностей сигналов H-1 остатков глюкуроновой кислоты (сигналы H-1^{α GlcA} $J_{1,2} = 3,9$ Hz, H-1^{β GlcA} $J_{1,2} = 8,7$ Hz) (Схема 18).



Схема 18.

Преимущественное образование α-изомера в ходе реакции глюкуронилирования, как и в случае донора **16**, объяснялось стабилизацией гликозил-катиона карбометоксильной группой (Рисунок 65). Величина энергии стабилизации в данном случае составила 6,2 ккал/моль.



Рисунок 65.

В полученном трисахариде **64** действием плавиковой кислоты была селективно удалена TBDMS защитная группа, что дало нам трисахаридный акцептор **65** с выходом 77% (схема 19). Полученный трисахарид **65** был введен в реакцию гликозилирования с фукофуранозным донором **19**. В результате этой реакции образовалась смесь α - и β -изомеров, причем стереоселективность в данном случае оказалась выше, чем при гликозилировании модельного акцептора **33**, и достигла соотношения 10:1 в пользу α -изомера. С помощью колоночной хроматографии α -продукт был выделен в чистом виде **66** с выходом 89%. Конфигурация образованной гликозидной связи была установлена на основании величины соответствующей КССВ J_{1-2} (4,2 Гц). Затем в полученном тетрасахариде **66** была удалена хлорацетильная защитная группа, что дало нам акцептор **67** с выходом 80% (Схема 19).



Схема 19. (i): HF (40% _{ад.}), CH₃CN; (ii): SC(NH₂)₂, 2,4,6-Collidine, MeOH.

На последнем этапе сборки пентасахаридного скелета тетрасахаридный акцептор 67 был введен в реакцию гликозилирования с донором 17 (Схема 20). В результате данной реакции нами был получен исключительно α -связанный пентасахарид 68 с выходом 86%. Конфигурация образованной гликозидной связи была установлена на основании величины соответствующей КССВ J_{1-2} (3,9 Гц). Как и в случае описанных выше реакций гликозилирования, стереохимический результат данной реакции обусловлен анхимерным содействием ацильных групп при *О*-3 и *О*-4 в гликозил-доноре 17.



Схема 20. (i): TMSOTf, DCM, -30°C; (ii): 1. H₂, Pd/C, 2. NaOH 2N_(aq.), MeOH; (iii): 1. LiOH 2N_(aq.), Bu₃NOH, THF, 2. Py·SO₃, DMF, 3. H₂, Pd/C; (iv): Py·SO₃, DMF.

Из соединения 68 были получены целевые пентасахариды 8-10 (схема 20). Удаление всех ацильных групп в 68, сульфатирование свободных гидроксильных групп в полученном продукте и последующий гидрогенолиз приводили к избирательно сульфатированному пентасахариду 10 с выходом 76%. Удалением всех защитных групп в 68 был получен несульфатированный пентасахарид 8 с 82%. выходом Введение данного пентасахарида В реакцию кислотнопромотируемого сульфатирования, как и в случае с тетрасахаридом 5, привело к смеси целевого продукта и продукта изомеризации восстанавливающего остатка фукопиранозной цепи. Поэтому по аналогии с тетрасахаридом нами была досульфатирования предпринята попытка селективно сульфатированного пентасахарида **10** действием Ру·SO₃ в ДМФА в отсутствие кислоты. Это дало нам требуемый сполна сульфатированный пентасахарид 9 с выходом 84%.

3.4. Сравнение спектров синтезированных соединений и фрагментов природных фукоиданов

Для установления конформационной близости между полученными нами синтетическими олигосахаридами и природными фукоиданами нами был проведен сравнительный анализ спектрометрических данных ¹Н и ¹³С ЯМР. Для сравнения мы использовали спектральные данные (химические сдвиги) полученных нами

несульфатированных олигосахаридов **1**, **3**, **5**, **8** и известные из литературы [256] данные для десульфатированного полисахарида из водоросли *C. flagelliformis*

Спектральные данные суммированы в трех таблицах. В таблице 4 представлено сравнение остатка D полисахарида (рисунок 66) с соответствующими остатками олигосахаридов 1, 3, 5, 8. В таблице 5 дано сравнение остатка L полисахарида с соответствующими остатками тетрасахаридов 1, 3, 5. А в таблице 6 дано сравнение остатка M и остатка X с соответствующими остатками пентасахарида 8.



Рисунок 66.

	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6
	95.9	71.8	73.9	68.2	67.8	16.7
U	5.15	4.19	4.29	4.14	4.34	1.20
1	98.86	74.86	73.04	68.61	67.22	16.53
Ŧ	5.05	4.02	4.17	4.08	4.08	1.25
2	96.30	77.05	70.56	73.67	68.29	16.75
3	5.17	3.96	4.18	3.87	4.36	1.24
F	95.32	71.61	74.10	68.28	67.62	16.52
5	5.15	4.19	4.29	4.12	4.29	1.24
7	95.47	72.35	73.91	68.30	68.22	16.53
	5.21	4.22	4.34	4.18	4.49	1.28

Таблица 5. Спектральные данные для остатков глюкуроновой кислоты тетрасахаридных фрагментов.

	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6
L	100.8	72.2	74.1	72.7	73.5	176.0
	5.31	3.62	3.71	3.54	4.00	n/a
1	101.40	72.35	74.18	73.15	73.18	177.75
	5.18	3.61	3.67	3.48	4.02	n/a
2	102.08	73.04	74.27	73.34	74.15	
5	5.26	3.64	3.78	3.53	4.10	n/a
5	100.55	72.30	74.10	73.05	74.02	
	5.29	3.59	3.73	3.52	3.97	n/a

Таблица 6. Спектральные данные для остатков глюкуроновой кислоты и фукофуранозы пентасахаридных фрагментов.

	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6
М	100.8	72.7	73.1	81.4	72.9	176.0
	5.29	3.70	3.80	3.60	4.10	n/a
7 (GlcA)	100.66	72.03	72.99	81.69	73.24	176.89
	5.32	3.71	3.86	3.63	4.14	n/a
v	103.5	77.7	75.9	86.2	68.2	19.8
^	5.02	4.08	4.08	3.63	3.91	1.22
7 (Fucf)	103.38	77.59	75.80	86.21	68.36	19.74
	5.10	4.14	4.18	3.71	3.99	1.30

Исходя из приведённых данных видно, что все синтетические структуры показывают хорошую сходимость спектральных данных с природным фукоиданом. Отдельно стоит выделить тетрасахарид **5** и пентасахарид **8**, выделяющиеся практически полным совпадением химических сдвигов с природным аналогом. Это объяснимо, поскольку их структуры обладают наибольшим сходством с полисахаридом, в отличие от тетрасахаридов **1**, **3**, у которых отсутствуют фукопиранозные заместители центрального звена либо при *O*-1 (как у **1**), либо при *O*-3 (как у **3**).

Как отмечалось выше, мы сравнивали несульфатированные олигосахариды **1, 3, 5, 8** и десульфатированный полисахарид из водоросли *C. flagelliformis*. Более весомым аргументом в пользу конформационной близости между полученными нами олигосахаридами и фукоиданами стало бы сравнение спектров избирательно сульфатированных олигосахаридов **7, 10** с природным полисахаридом. Однако ввиду сложности и нерегулярности строения спектры фукоидана из водоросли *C. flagelliformis* не поддаются однозначной интерпретации. Поэтому мы были вынуждены ограничиться сравнением их несульфатированных аналогов.

На основании спектрального анализа мы можем сказать, что синтезированные структуры в достаточной мере отражают строение природного фукоидана, а значит, могут являться перспективными моделями для последующих биологических испытаний. Отдельно стоит выделить олигосахариды, содержащие разветвление у центрального звена фукопиранозной цепи, которые в наибольшей степени отражают структуру природного полисахарида.

3.5. Исследование антикоагулянтной активности

Поиск антикоагулянтов новых типов представляется актуальной задачей в связи с тем, что используемые в настоящее время в медицинской практике антикоагулянтные препараты, такие как полисахарид гепарин и его производные, нередко вызывают побочные эффекты (кровотечения и тромбоцитопению).

Способность синтезированных соединений ингибировать коагуляцию крови была исследована В тесте по увеличению активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ). Наряду с олигосахаридами были изучены нативные фукоиданы из водорослей Chordaria flagelliformis (CF) и Cladosiphon okamuranus (CO) (см. Литературный обзор). Эти полисахариды построены из $(1 \rightarrow 3)$ -связанных остатков α -L-фукопиранозы, некоторые из которых содержат при *О*-2 остатки α-D-глюкуроновой кислоты (соотношение GlcA:Fuc ~ 1:4) (Рисунок 67). Фукоиданы различаются степенью сульфатирования: для CF соотношение SO₃Na:Fuc составляет 0,8, а для CO эта величина равна 0,4. Кроме того, в структуре **CF** присутствуют разветвленные фрагменты, содержащие остатки α-Lфукофуранозы.

В условиях реакции сульфатирования в присутствии HSO₃Cl из полисахаридов **CF** и **CO** были получены высокосульфатированные производные **CFS** и **COS**. Величина степени сульфатирования для этих полимеров составила 2,0.

Активность поли- и олигосахаридов была сопоставлена с активностью препаратов Clexane (низкомолекулярный гепарин) и Arixtra (синтетический аналог пентасахаридной последовательности гепарина).

79



Cordaria flagellirormis

Рисунок 67. Основные структурные характеристики фукоиданов из водорослей *Chordaria flagelliformis* и *Cladosiphon okamuranus*.

Результаты проведенных исследований представлены на Рисунке 68 и в Таблице 7.



Рисунок 68. Влияние поли- и олигосахаридов на время формирования фибринового сгустка в тесте АЧТВ.

Образец	2АЧТВ
CF	5,8 ± 0,2
СО	> 100
CFS	$3,2 \pm 0,05$
COS	$3,4 \pm 0,05$
2	29 ± 1,05
4	31 ± 1,9
6	25 ± 1,6
9	$15 \pm 0,8$
Клексан	5,0 ± 0,1
Арикстра	21 ± 1,0

Таблица 7. Величины 2АЧТВ* для поли- и олигосахаридов.

* Концентрация исследуемого вещества (мкг/мл), при которой время формирования фибринового сгустка увеличивается в 2 раза.

Фукоидан из *C. okamuranus*, а также несульфатированные и избирательно сульфатированные олигосахариды не проявляли активности, тогда как их полностью сульфатированные аналоги проявляли значимую активность, сопоставимую с эффектом препарата Arixtra. При этом сполна сульфатированный пентасахарид **9** практически в два раза превзошел показатели тетрасахарида **6** и оказался даже более активен, чем Arixtra. Фукоидан из *C. flagelliformis* проявил уровень активности, сравнимый с низкомолекулярным гепарином (Clexane), а наиболее активными в данной серии оказались искусственно досульфатированные фукоиданы **CFS** и **COS**.

На основании полученных данных можно утверждать, что уровень проявляемой фукоиданами и родственными им олигосахаридами активности растет с увеличением степени сульфатирования сахаридов. Также было показано, что присутствие остатка α-L-фукофуранозы в боковых цепях значительно увеличивает уровень антикоагулянтной активности.

Часть 4.

выводы

1. Впервые осуществлен синтез четырех незащищенных (**1**, **3**, **5**, **8**), четырех сполна сульфатированных (**2**, **4**, **6**, **8**), а также двух избирательно сульфатированных (**7**, **10**) олигосахаридов, соответствующих разветвленным фрагментам фукоидана из водоросли *Chordaria flagelliformis*.

2. Разработан эффективный препаративный метод синтеза фукофуранозного донора с применением недавно открытой реакции перегруппировки β -All-Fuc*p* \rightarrow β -All-Fuc*f*.

3. Впервые изучено влияние заместителей в структуре фукофуранозных доноров на стереохимию реакции гликозилирования и показано стереоконтролирующее влияние ацильного заместителя при *O*-3.

4. Исследование антикоагулянтной активности полученных соединений, а также серии нативных и высокосульфатированных полисахаридов показало, что увеличению эффекта способствует высокая степень сульфатирования сахаридов и наличие боковых сульфатированных α-L-фукофуранозных заместителей.

Часть 5.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

5.1. Введение

Тонкослойную хроматографию проводили на пластинках с силикагелем Kieselgel 60 F_{254} (Merck), вещества обнаруживали опрыскиванием 10% (v/v) раствором 85% ортофосфорной кислоты с последующим нагреванием при t=150°C. Колоночную хроматографию защищенных соединений выполняли на силикагеле 63/200 мкм Kieselgel 60 (Fluka) и геле BioBeads SX-3 (Bio Rad). Дополнительную очистку при необходимости производили с помощью ВЭЖХ на колонках SUPELCO LC-SI и LC-18 (обращённая фаза). Гель-хроматографию целевых олигосахаридов (1-10) проводили на геле Sephadex G-15, размеры колонки (2×20 см), элюент - вода.

Все коммерчески доступные реактивы использовались без дополнительной очистки, если не указано иное. Для всех опытов использовали только свежеперегнанные в атмосфере аргона растворители [289-290]. Дихлорметан мыли концентрированной серной кислотой, затем дистиллированной водой, перегоняли над K_2CO_3 , далее над P_2O_5 и затем над CaH_2 . Метанол перегоняли над метилатом магния. Коммерчески доступные абсолютные *N*,*N*-диметилформамид, пиридин, диоксан, ацетонитрил и тетрагидрофуран дополнительной очистке не подвергались.

Оптическое вращение полученных соединений измеряли на цифровом поляриметре DIP-360 (Jasco) при температуре 20-25°С. Спектры ¹H и ¹³C-ЯМР описанных соединений измерены на приборах Bruker AMX-400 и Bruker AV-600 при температуре 303 К; использовались растворы в дейтерохлороформе, а для соединений **53**, **54** и целевых структур **1-10** использовались растворы в D₂O. Отнесение сигналов в одномерных спектрах ¹H-ЯМР полученных соединений проводили с использованием двумерных спектрах ¹³C-ЯМР проводили с использованием двумерных спектров ¹H-¹³C HSQC и HMBC.

Масс-спектры высокого разрешения были зарегистрированы на приборе Bruker micrOTOF II методом электрораспылительной ионизации (ESI) [291]. Измерения выполнены на положительных (напряжение на капилляре – 4500 V) или отрицательных (напряжение на капилляре 3200 V) ионах. Диапазон сканирования масс — m/z 50 — 3000 Д, калибровка — внешняя или внутренняя (Electrospray Calibrant Solution, Fluka). Использовался шприцевой ввод вещества для растворов в ацетонитриле, метаноле или воде, скорость потока — 3 мкл/мин. Газ-распылитель — азот (4 л/мин), температура интерфейса — 180°С.

5.2. Синтез целевых тетрасахаридов 1-4

Аллил-2-*О*-бензил-3-*О*-(2-*О*-бензил-3-*О*-ацетил-4-*О*-бензоил-α-Lфукопиранозил)-4-*О*-бензоил-α-L-фукопиранозид (20) [283]



К раствору дисахарида **13** (370 мг, 0.5 ммоль) в дихлорметане (4 мл) добавляют 3 экв. пиридина (120 мкл, 1.5 ммоль), после чего микрошприцом добавляют 1.5 экв. уксусного ангидрида (70 мкл, 0.75 ммоль). Реакционную смесь выдерживают при комнатной температуре до полного исчезновения исходного дисахарида. Реакцию контролируют методом TCX (система ПЭ:ЭА 2:1, $R_{f(прод.)}=0.6$). По окончании реакции (24 часа) в реакционную смесь добавляют избыток метанола (3 мл), после чего соупаривают с Tol (15 мл). Колоночной хроматографией (система ПЭ:ЭА 8:1→6:1) из смеси выделяют чистый продукт **20** (341 мг, 0.436 ммоль, 87%).

Трихлорацетимидат-2-*О*-бензил-3-*О*-(2-*О*-бензил-3-*О*-ацетил-4-*О*-бензоилα-L-фукопиранозил)-4-*О*-бензоил-α,β-L-фукопиранозид (11) [283]



К раствору дисахарида 20 (341 мг, 0.436 ммоль) в метаноле (4 мл) добавляют 0.4 экв. дихлорида палладия (31 мг, 0.175 ммоль) и перемешивают до полного исчезновения исходного соединения. Реакцию контролируют методом ТСХ (система ПЭ:ЭА 2:1, R_{f(прод.)}=0.3). По окончании реакции (1 час) реакционную смесь отфильтровывают через слой целита от Pd⁰, фильтр промывают метанолом. К фильтрату добавляют Et₃N (0.3 мл) и концентрируют его в вакууме. Колоночной хроматографией (система ПЭ:ЭА 6:1→2:1) из смеси выделяют полуацеталь в виде смеси α и β-изомеров. К раствору полученных полуацеталей (153 мг, 0.207 ммоль) в абсолютном CH₂Cl₂ (3 мл) добавляют навеску 3 экв. карбоната цезия (202 мг, 0.62 ммоль) и 5 экв. трихлорацетонитрила (100 мкл, 1.035 ммоль). Реакционную смесь интенсивно перемешивают при комнатной температуре до полного исчезновения полуацеталей. Реакцию контролируют методом ТСХ (система ПЭ:ЭА 3:1, пластинки пассивированны Et₃N, R_{f(прод.)}=0.8). По окончании реакции (30 минут) реакционную смесь отфильтровывают через слой целита от карбоната цезия, фильтр промывают ЭА. Фильтрат концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система ПЭ:ЭА 7:1, колонка обработана 0.01 М раствора Et₃N в толуоле) из смеси выделяют трихлорацетимидат 11 (277 мг, 0.314 ммоль, 72%) в виде смеси α и β-изомеров

Аллил-2-*O*-[(метил (2,3,4-три-*O*-бензил-α-D-глюкопиранозил) уронат]-3-*O*-[2-*O*-бензил-3-*O*-(2-*O*-бензил-3-*O*-ацетил-4-*O*-бензоил-α-L-фукопиранозил)-4-*O*бензоил-α-L-фукопиранозил]-4-*O*-ацетил-α-L-фукопиранозид (21)



К раствору донора **11** (200 мг, 0.227 ммоль, 1.2 экв) и акцептора **12** (134 мг, 0.19 ммоль) в абсолютном CH_2Cl_2 (3 мл) в атмосфере аргона прибавляют молекулярные сита MS-4Å (300 мг) (прокаленные при 200°С на вакууме в течение 2 часов), и перемешивают в течение 30 минут. Затем к реакционной смеси, охлажденной до -50°С с помощью ацетоновой бани, микрошприцом добавляют 0.25 экв. TMSOTf (10 мкл, 0.05 ммоль). Реакционную смесь выдерживают при постоянном перемешивании в интервале температур от -40°С до -20°С. Реакцию контролируют методом 2D-TCX (системы Tol:ЭA 10:1 и ПЭ:ЭА 3:1). По окончании реакции (1 час) в реакционную смесь добавляют Et₃N (0.3 мл), после чего реакционную смесь фильтруют на стеклянном фильтре через слой силикагеля, фильтр промывают ЭА. Фильтрат концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система Tol:ЭА 15:1) из смеси выделяют чистый α -продукт **21** (223 мг, 0.156 ммоль, 82%).

 $[\alpha]_{D}$ =-158.5° (c=1, EtOAc).

¹H ЯМР (600 МГц, CDCl₃): δ 0.51 (3H d, J_{5-6} =6.5 Γц, H-6 (Fuc'')), 1.14 (3H, d, J_{5-6} =6.5 Γц, H-6 (Fuc)), 1.27 (3H, d, J_{5-6} =6.5 Γц, H-6 (Fuc')), 1.70 (3H, s, Ac), 2.08 (3H, s, Ac), 3.53 (1H, dd, J_{1-2} =3.7 Γц, J_{2-3} =9.7 Γц, H-2 (GlcA)), 3.67 (3H, s, OMe), 3.73 (1H, t, J=9.5 Гц, H-4 (GlcA)), 3.78 (1H, dd, J_{1-2} =3.5 Гц, J_{2-3} =10.6 Гц, H-2 (Fuc'')), 3.83 (1H, dd, J_{1-2} =3.5 Гц, J_{2-3} =10.6 Гц, H-2 (Fuc')), 3.88 (1H, t, J=9.3 Гц, H-3 (GlcA)), 3.96-4.01 (1H, m, OC*H*H'CH), 4.05 (1H, q, J=6.5 Гц, H-5 (Fuc)), 4.08-4.13 (2H, m, OC*HH*'CH, C*H*H'Ph), 4.15 (1H, dd, J_{1-2} =3.6 Гц, J_{2-3} =10.1 Гц, H-2 (Fuc')), 4.37 (1H, q, J=6.6 Гц, H-5 (Fuc'')), 4.43 (1H, d, J=12.6 Гц, CH*H*'Ph), 4.49 (1H, d, J_{4-5} =10 Гц, H-5 (GlcA), 4.52-4.56 (2H, m, H-1(GlcA), H-3 (Fuc)), 4.58-4.63 (2H, m, CH₂Ph), 4.70-4.74 (2H, m, H-3 (Fuc')), CHH'Ph), 4.97 (1H, d, J=10.8 Гц, CHH'Ph), 5.00 (1H, d, J_{1-2} =3.5, H-1 (Fuc)), 5.14 (1H, s, H-4 (Fuc'')), 5.15-5.23 (4H, m, CH=CHH', 2xCHH'Ph , H-1 (Fuc'')), 5.31-5.36 (2H,

H-3 (Fuc''), CH=CH*H*'), 5.47 (1H, d, *J*₁₋₂=3.6 Гц, H-1 (Fuc')), 5.50 (1H, d, *J*₃₋₄=2.8 Гц, H-4 (Fuc)), 5.77 (1H, d, *J*₃₋₄=3.4 Гц, H-4 (Fuc')), 5.95-5.62 (1H, m, CH₂C*H*=CH₂), 6.98-7.60 (m, 7xAr), 7.87 (1H, d, *J*=7.6 Гц, Bz) 7.98 (1H, d, *J*=7.9 Гц, Bz).

¹³C ЯМР (150.9 МГц, CDCl₃): δ 15.2 (C-6 (Fuc'')), 16.0 (C-6 (Fuc)), 16.6 (C-6 (Fuc')), 20.6 (2xAc), 52.2 (OMe), 64.6 (C-5 (Fuc')), 64.6 (C-5 (Fuc)), 64.7 (C-5 (Fuc')), 68.5 (OCH₂CH), 68.7 (C-3 (Fuc)), 69.6 (C-4 (Fuc)), 69.9 (C-4 (Fuc')), 70.3 (C-3 (Fuc''), 70.8 (C-5 (GlcA)), 71.1 (C-3 (Fuc')), 72.4 (C-2 (Fuc'')), 72.5 (C-4 (Fuc''), CH₂Ph), 73.2 (CH₂Ph), 74.6 (CH₂Ph), 74.9 (CH₂Ph), 75.4 (C-2 (Fuc')), 76.0 (CH₂Ph), 77.9 (C-2 (Fuc')), 79.5 (GlcA)), 80.2 (C-2 (GlcA)), 81.6 (C-3 (GlcA)), 92.9 (C-1 (Fuc')), 93.4 (C-1 (Fuc'')), 97.7 (C-1 (Fuc)), 100.6 (C-1 (GlcA)), 117.0 (CH₂CH=CH₂), 125-130 (7xAr), 132.7 (Bz), 133.0 (Bz), 134.0 (CH₂CH=CH₂), 138.0 (Bn), 138.2 (2xBn), 138.8 (Bn), 166.0 (*C*(O)Ph), 166.6 (*C*(O)Ph), 170.00 (*C*(O)CH₃), 170.3 (*C*(O)CH₃), 170.8 (C-6 (GlcA)).

Пропил-2-*O*-(натрия α-D-глюкопиранозилуронат)-3-*O*-[3-*O*-(α-Lфукопиранозил)-α-L-фукопиранозил]-α-L-фукопиранозид (1)



К раствору тетрасахарида **21** (37 мг, 0.026 ммоль) в метаноле (1.5 мл) и ЭА (1.5 мл) добавляют палладий на угле (37 мг), после чего колбу заполняют водородом. Реакционную смесь интенсивно перемешивают при комнатной температуре. Реакцию контролируют методом ТСХ (система ЭА). По окончании реакции (1 час) реакционную смесь фильтруют на стеклянном фильтре через слой силикагеля, затем концентрируют в вакууме. К раствору полученного продукта в метаноле (1 мл) прибавляют $2N_{(aq.)}$ NaOH (0.2 мл). Реакционную смесь выдерживают при комнатной температуре и перемешивании. По окончании реакции (20 часов) реакционную смесь концентрируют в вакууме, после чего растворяют в дистиллированной воде (1 мл), фильтруют через нейлоновый фильтр

и наносят на гелевую колонку. Эксклюзионной хроматографией из смеси выделяют чистый продукт **1** (16 мг, 0.023 ммоль, 87%).

 $[\alpha]_{D}$ =-104° (c=1, H₂O).

MS-ESI C₂₇H₄₅NaO₁₉ [M-Na]⁻; вычисл.: 673.2561, найдено: 673.2553.

¹H ЯМР (600 МГц, D₂O): δ 0.94 (3H, t, J=7.5 Γц, CH₂CH₂CH₃), 1.21 (3H, d, J_{5-6} =6.7 Γц, H-6 (Fuc')), 1.25 (6H, d, J_{5-6} =6.6 Γц, H-6 (Fuc), H-6 (Fuc')), 1.61-1.68 (2H, m, CH₂CH₂CH₃), 3.46-3.50 (2H, m, H-4 (GlcA), OCHH'CH₂), 3.61 (1H, dd, J_{1-2} =3.9 Γц, J_{2-3} =9.9 Γц, H-2 (GlcA)), 3.63-3.71 (2H, m, H-3 (GlcA), OCHH'CH₂), 3.80-3.84 (2H, m, H-2 (Fuc')), H-4 (Fuc')), 3.93-3.97 (2H, m, H-2 (Fuc'), H-3 (Fuc')), 4.00-4.04 (4H, m, H-2 (Fuc)), H-3 (Fuc'), H-4 (Fuc'), H-5 (GlcA)), 4.06-4.11 (2H, m, H-4 (Fuc), H-5 (Fuc))), 4.17 (1H, dd, J_{2-3} =10.5 Γц, J_{3-4} =3.1 Γц, H-3 (Fuc)), 4.34 (1H, q, J=6.7 Γц, H-5 (Fuc')), 4.53 (1H, q, J=6.7 Γц, H-5 (Fuc')), 5.05 (2H, d, J_{1-2} =3.9 Γц, H-1 (Fuc), H-1 (Fuc')), 5.16 (1H, d, J_{1-2} =3.8 Γц, H-1 (Fuc')), 5.18 (1H, d, J_{1-2} =3.9 Γц, H-1 (GlcA)).

¹³C ЯМР (150.9 МГц, D₂O): δ 11.2 (CH₂CH₂CH₃), 16.5 (C-6 (Fuc), C-6 (Fuc'), C-6 (Fuc')), 23.3 (CH₂CH₂CH₃), 67.2 (C-5 (Fuc)), 67.6 (C-2 (Fuc')), 67.8 (C-5 (Fuc')), 68.1 (C-5 (Fuc'')), 68.6 (C-4 (Fuc)), 69.3 (C-2 (Fuc'')), 69.8 (C-4 (Fuc')), 70.7 (C-3 (Fuc'')), 71.3 (OCH₂CH₂), 72.4 (C-2 (GlcA)), 73.0 (C-3 (Fuc)), 73.2 (C-4 (Fuc''), C-4 (GlcA)), 73.2 (C-5 (GlcA)), 74.2 (C-3 (GlcA)), 74.9 (C-2 (Fuc)), 75.9 (C-3 (Fuc')), 94.8 (C-1 (Fuc')), 96.8 (C-1 (Fuc'')), 98.9 (C-1 (Fuc)), 101.4 (C-1 (GlcA)), 177.8 (C-6 (GlcA)).

Натриевая соль пропил-2-*О*-[натрия (2,3,4-три-*О*-сульфо-α-Dглюкопиранозил) уронат]-3-*О*-[2,4-ди-*О*-сульфо-3-*О*-(2,3,4-три-*О*-сульфо-α-Lфукопиранозил)-α-L-фукопиранозил]-4-*О*-сульфо-α-L-фукопиранозид (2)



К раствору тетрасахарида **1** (6 мг, 0.0086 ммоль) в ДМФА (0.5 мл) в атмосфере аргона при 0°С добавляют навеску 45 экв. (5 экв. на ОН-группу) Ру·SO₃ (62.8 мг, 0.4 ммоль), а затем микрошприцом 9 экв. (1 экв. на ОН-группу) HSO₃Cl (5.2 мкл,

0.0774 ммоль). Реакционную смесь выдерживают в течение 20 часов при температуре 2-6°С. По окончании реакции в реакционную смесь добавляют $1M_{(aq.)}$ NaHCO₃ до pH=8-9, после чего несколько раз соупаривают с дистиллированной водой. Эксклюзионной хроматографией выделяют чистый продукт **2** (11 мг, 0.0068 ммоль, 79%).

MS-ESI C₂₇H₃₆Na₁₀O₄₆S₉ [M+2Na]²⁺; вычисл.: 829.8363, найдено: 829.8371.

¹H ЯМР (600 МГц, D₂O): δ 0.95 (3H, t, J=7.4 Γц, CH₂CH₂CH₃), 1.31 (3H, d, $J_{5-6}=6.4$ Γц, H-6 (Fuc')), 1.34 (3H, d, $J_{5-6}=6.6$ Γц, H-6 (Fuc)), 1.37 (3H, d, $J_{5-6}=6.5$ Γц, H-6 (Fuc'')), 1.64-1.70 (2H, m, CH₂CH₂CH₃), 3.61 (2H, t, J=6.9 Γц, OCH₂CH₂), 4.19 (1H, dd, $J_{1-2}=3.5$ Гц, $J_{2-3}=10$ Гц, H-2 (Fuc)), 4.24 (1H, q, J=6.4 Гц, H-5 (Fuc')), 4.31 (1H, dd, $J_{2-3}=10$ Гц, $J_{3-4}=2.5$ Гц, H-3 (Fuc)), 4.43 (1H, q, J=6.5 Гц, H-5 (Fuc)), 4.54-4.62 (5H, m, H-5 (GlcA), H-2 (Fuc'), H-3 (Fuc'), H-2 (Fuc''), H-5 (Fuc'')), 4.68 (1H, br s, H-2 (GlcA)), 4.88 (1H, br s, H-4 (Fuc)), 4.90 (1H, br s, H-4 (Fuc')), 4.94 (1H, m, H-3 (Fuc'')), 4.96 (1H, m, H-4 (Fuc'')), 5.04-5.08 (2H, m, H-3 (GlcA), H-4 (GlcA)), 5.19 (1H, d, $J_{1-2}=3.5$ Гц, H-1 (Fuc)), 5.42 (1H, d, $J_{1-2}=3.4$ Гц, H-1 (Fuc'')), 5.46 (1H, br s, H-1 (GlcA)), 5.48 (1H, d, $J_{1-2}=2.5$ Гц, H-1 (Fuc')).

¹³C ЯМР (150.9 МГц, D₂O): δ 11.4 (CH₂CH₂CH₃), 17.2 (C-6 (Fuc'), C-6 (Fuc'')), 18.1 (C-6 (Fuc)), 23.4 (CH₂CH₂CH₃), 67.7 (C-5 (Fuc')), 68.0 (C-5 (Fuc'')), 69.1 (C-5 (Fuc)), 71.8 (OCH₂CH₂), 72.6 (C-2 (GlcA)), 73.7 (C-2 (Fuc''), C-3 (Fuc'')), 74.3 (C-3 (Fuc')), 74.5 (C-3 (GlcA)), 74.7 (C-4 (GlcA)), 76.1 (C-2 (Fuc'), C-3 (Fuc)), 77.4 (C-5 (GlcA)), 80.1 (C-2 (Fuc)), 81.1 (C-4 (Fuc')), 81.4 (C-4 (Fuc), C-4 (Fuc'')), 97.3 (C-1 (GlcA)), 97.6 (C-1 (Fuc'')), 99.5 (C-1 (Fuc), C-1 (Fuc')).

Аллил-2-*O*-[(метил (2,3,4-три-*O*-бензил-α-D-глюкопиранозил) уронат]-3-*O*бензоил-4-*O*-ацетил-α-L-фукопиранозид (22)



К раствору дисахарида **12** (54 мг, 0.076 ммоль) в пиридине (2 мл) микрошприцом добавляют 2 экв. бензоил хлорида (20 мкл, 0.152 ммоль) Реакционную смесь выдерживают при комнатной температуре до полного исчезновения исходного дисахарида (12 часов). Реакцию контролируют методом TCX (система Tol:ЭА 5:1, R_f=0.6). По окончании реакции реакционную смесь

разбавляют этилацетатом (25 мл), моют насыщенным раствором NaHCO₃(aq.) (25 мл) и дистиллированной водой (2×25 мл). Органический слой отделяют, сушат над Na₂SO_{4(безв.)}, и концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система Tol:ЭА 9:1) из смеси выделяют чистый продукт **22** (49 мг, 0.0607 ммоль, 80%).

¹H ЯМР (600 МΓц, CDCl₃): δ 1.21 (3H, d, J_{5-6} =6.6 Γц, H-6 (Fuc)), 2.21 (3H, s, Ac), 3.47 (1H, dd, J_{1-2} =3.4 Γц, J_{2-3} =6.3 Γц, H-2 (GlcA)), 3.67-3.73 (4H, m, H-4 (GlcA), -OMe), 3.99 (1H, t, J_{3-4} =9.4 Γц, H-3 (GlcA)), 4.11-4.16 (1H, m, OCHH'CH), 4.19-4.23 (2H, m, H-2 (Fuc), CHH'Ph), 4.24-4.28 (1H, m, OCHH'CH), 4.29-4.34 (2H, m, H-5 (Fuc), CHH'Ph), 4.44 (1H, d, J_{4-5} =10 Γц, H-5 (GlcA)), 4.58 (1H, d, J=11.1 Γц, CHH'Ph), 4.72-4.75 (1H, m, CHH'Ph), 4.79-4.82 (2H, m, CH₂Ph), 5.06 (1H, d, J_{1-2} =3.4 Γц, H-1 (GlcA)), 5.13 (1H, J_{1-2} =3.4 Γц, H-1 (Fuc)), 5.27 (1H, m, CH=CHH'), 5.41 (1H, m, CH=CHH'), 5.53 (1H, d, J_{3-4} =3 Γц, H-4 (Fuc)), 5.77 (1H, dd, J_{3-4} =3.4 Γц, J_{2-3} =7.1 Γц, H-3 (Fuc)), 6.0-6.08 (1H, m, CH₂CH=CH₂), 6.96-7.51 (m, 4xAr), 7.99 (1H, d, J=7.9, Bz).

¹³C ЯМР (150.9 МГц, CDCl₃): δ 15.9 (C-6 (Fuc)), 20.6 (Ac), 52.3 (OMe), 64.5 (C-5 (Fuc)), 69.0 (OCH₂CH), 70.0 (C-3 (Fuc)), 71.0 (C-5 (GlcA)), 71.7 (C-4 (Fuc)), 72.3 (CH₂Ph), 74.8 (CH₂Ph), 74.9 (C-2 (Fuc)), 75.6 (CH₂Ph), 72.8 (C-2 (GlcA)), 79.5 (C-4 (GlcA)), 80.7 (C-3 (GlcA)), 97.5 (C-1 (Fuc)), 99.4 (C-1 (GlcA)), 118.0 (CH₂=CH–CH₂), 127-130 (Ar), 133.0 (CH₂=CH–CH₂), 137.8 (Bn), 138.2 (Bn), 138.6 (Bn), 165.3 (C(O)Ph), 170.2 (C-6 (GlcA)).

Трихлорацетимидат-2-*O*-[(метил (2,3,4-три-*O*-бензил-α-Dглюкопиранозил) уронат]-3-*O*-бензоил-4-*O*-ацетил-α-L-фукопиранозид (14)



К раствору дисахарида 22 (49 мг, 0.0607 ммоль) в метаноле (2 мл) добавляют 0.4 экв. дихлорида палладия (4.3 мг, 0.024 ммоль) и перемешивают до полного исчезновения исходного соединения. Реакцию контролируют методом TCX (система Tol:ЭA 3:1, R_f =0.3). По окончании реакции (2 часа) реакционную смесь отфильтровывают через слой целита от Pd⁰, фильтр промывают метанолом. К фильтрату добавляют Et₃N (0.1 мл) и концентрируют его в вакууме. Колоночной

хроматографией (система Tol:ЭА 5:1→3:1) из смеси выделяют полуацеталь. К раствору полученного полуацеталя (37.8 мг, 0.049 ммоль) в абсолютном CH₂Cl₂ (2 мл) добавляют навеску 2 экв. карбоната цезия (32 мг, 0.1 ммоль) и 2 экв. трихлорацетонитрила (10 мкл, 0.1 ммоль). Реакционную смесь интенсивно перемешивают при комнатной температуре полного ДО исчезновения полуацеталей. Реакцию контролируют методом TCX (система Tol:ЭА 3:1, пластинки пассивированны Et₃N, R_f=0.8). По окончании реакции (30 минут) реакционную смесь отфильтровывают через слой целита от карбоната цезия, фильтр промывают ЭА. Фильтрат концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система Tol:ЭА 5:1, колонка обработана 0.01 М раствора Et₃N в толуоле) из смеси выделяют трихлорацетимидат 14 (41.5 мг, 0.0455 ммоль, 75%) в виде чистого α-изомера.

¹H ЯМР (600 МГц, CDCl₃): δ 1.25 (3H, d, J_{5-6} =6.5 Гц, H-6 (Fuc)), 2.20 (3H, s, Ac), 3.45 (1H, dd, J_{1-2} =3.2 Γц, J_{2-3} =9.6 Γц, H-2 (GlcA)), 3.66 (1H, t, J=9.4 Γц, H-4 (GlcA)), 3.73 (3H, s, OMe), 3.85 (1H, t, J=9.4 Γц, H-3 (GlcA)), 4.16-4.25 (2H, m, C H_2 Ph), 4.47 (1H, d, J_{4-5} =9.8 Γц, H-5 (GlcA)), 4.49-4.53 (2H, m, H-2 (Fuc),H-5 (Fuc)), 4.55-4.78 (4H, m, C H_2 Ph), 5.22 (1H, d, J_{1-2} =3.1 Γц, H-1 (GlcA)), 5.61 (1H, d, J_{3-4} =2.4 Γц, H-4 (Fuc)), 5.81 (1H, dd, J_{2-3} =10.4 Γц, J_{3-4} =3.1 Γц H-3 (Fuc)), 6.68 (1H, d, J_{1-2} =3.2 Γц, H-1 (Fuc)), 6.91-7.57 (m, 4xAr), 7.91 (1H, d, J=7.9 Γц, Bz), 8.77 (1H, s, NH).

¹³C ЯМР (150.9 МГц, CDCl₃): δ 16.0 (C-6 (Fuc)), 20.6 (Ac), 52.4 (OMe), 67.6 (C-5 (Fuc)), 70.7 (C-3 (Fuc)), 70.9 (C-4 (Fuc)), 71.1 (C-5 (GlcA)), 72.0 (CH₂Ph), 72.3 (C-2 (Fuc)), 74.6 (CH₂Ph), 75.6 (CH₂Ph), 78.5 (C-2 (GlcA)), 79.3 (C-4 (GlcA)), 80.4 (C-3 (GlcA)), 95.5 (C-1 (Fuc)), 98.8 (C-1 (GlcA)), 125-130 (Ar), 133.3 (Bz), 137.7 (Bn), 138.2 (Bn), 138.4 (Bn), 160.9 (*C*(NH)CCl₃), 165.1 (*C*(O)Ph), 170.0 (C-6 (GlcA)), 170.1 (*C*(O)CH₃).

Аллил-2-*О*-бензил-3-*О*-(2-*О*-бензил-3-*О*-(2-*О*-[метил (2,3,4-три-*О*-бензил-α-D-глюкопиранозил) уронат]-3-*О*-бензоил-4-*О*-ацетил-α-L-фукопиранозил)-4-*О*бензоил-α-L-фукопиранозил)-4-*О*-бензоил-α-L-фукопиранозид (23)



К раствору акцептора **13** (21.6 мг, 0.0334 ммоль, 1.2 экв) и донора **14** (26.1 мг, 0.0285 ммоль) в абсолютном CH₂Cl₂ (1.5 мл) в атмосфере аргона прибавляют молекулярные сита MS-4Å (150 мг) (прокаленные при 200°С на вакууме в течение 2 часов), и перемешивают в течение 30 минут. Затем к реакционной смеси, охлажденной до -50°С с помощью ацетоновой бани, микрошприцом добавляют 0.3 экв. TMSOTf (2 мкл, 0.009 ммоль). Реакционную смесь выдерживают при постоянном перемешивании в интервале температур от -40°С до -20°С. Реакцию контролируют методом 2D-TCX (системы Tol:ЭА 10:1 и ПЭ:ЭА 3:1). По окончании реакции (1 час) в реакционную смесь добавляют Et₃N (0.1 мл), после чего реакционную смесь фильтруют на стеклянном фильтре через слой силикагеля, фильтр промывают ЭА. Фильтрат концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система ПЭ:ЭА 8:1 \rightarrow 2:1) из смеси выделяют чистый α -продукт **23** (32 мг, 0.0214 ммоль, 75%).

¹H ЯМР (600 МГц, CDCl₃): δ 0.74 (3H, d, J_{5-6} =6.4 Гц, H-6 (Fuc'')), 1.00 (3H, d, J_{5-6} =6.4 Γц, H-6 (Fuc')), 1.20 (3H, d, J_{5-6} =6.4 Γц, H-6 (Fuc)), 2.07 (3H, s, Ac), 3.38 (1H, dd, J_{1-2} =3.9 Гц, J_{2-3} =9.6 Гц, H-2 (GlcA)), 3.45-3.50 (1H, m, H-3 (GlcA)), 3.60 (1H, t, J=9.5 Гц, H-4 (GlcA)), 3.85 (3H, s, OMe), 4.07-4.23 (5H, m, H-2 (Fuc), H-2 (Fuc'), H-5 (Fuc), OCH₂CH), 4.31-4.34 (1H, m, H-5 (Fuc')), 4.45-4.53 (4H, m, H-2 (Fuc''), H-3 (Fuc), H-3 (Fuc'), H-5 (Fuc'')), 4.55-4.68 (8H, m, 4xCH₂Ph), 4.76-4.85 (3H, m, H-5 (GlcA), CH₂Ph), 4.98 (1H, d, J_{1-2} =3.4 Гц, H-1 (Fuc)), 5.19 (1H, br s, H-4 (Fuc'')), 5.25-5.29 (1H, m, CH₂CH=CHH'), 5.37-5.48 (4H, m, H-1 (Fuc'), H-1 (Fuc''), H-1 (GlcA), CH₂CH=CHH'), 5.66 (1H, d, $J_{3.4}$ =2.2 Гц, H-4 (Fuc')), 5.72 (1H, br s, H-4 (Fuc)), 5.77 (1H, dd, J_{2-3} =10.6 Гц, $J_{3.4}$ =3.3 Гц, H-3 (Fuc'')), 5.97-6.05 (1H, m, CH₂CH=CH₂), 6.91-8.2 (8xAr).

¹³C ЯМР (150.9 МГц, CDCl₃): δ15.4 (C-6 (Fuc'')), 16.3 (C-6 (Fuc')), 16.3 (C-6 (Fuc)), 20.5 (Ac), 52.6 (OMe), 64.1 (C-5 (Fuc'')), 65.3 (C-5 (Fuc)), 65.7 (C-5 (Fuc')), 79.0 (C-2 (GlcA)), 80.0 (C-3 (GlcA)), 80.1 (C-4 (GlcA)), 93.0 (C-1 (Fuc'')), 94.2 (C-1 (Fuc')), 96.6 (C-1 (Fuc)), 97.8 (C-1 (GlcA)), 117.7 (CH₂CH=CH₂).

Пропил-3-*O*-(3-*O*-(2-*O*-(натрия α-D-глюкопиранозилуронат)-α-Lфукопиранозил)-α-L-фукопиранозил)-α-L-фукопиранозид (3)



К раствору тетрасахарида **23** (21.5 мг, 0.0144 ммоль) в метаноле (1.5 мл) и ЭА (1.5 мл) добавляют палладий на угле (25 мг), после чего колбу заполняют водородом. Реакционную смесь интенсивно перемешивают при комнатной температуре. Реакцию контролируют методом TCX (система ЭА). По окончании реакции (1 час) реакционную смесь фильтруют на стеклянном фильтре через слой силикагеля, затем концентрируют в вакууме. К раствору полученного продукта (9.5 мг, 0.091 ммоль) в метаноле (1 мл) прибавляют $2N_{(aq.)}$ NaOH (0.1 мл). Реакционную смесь выдерживают при комнатной температуре и перемешивании. По окончании реакции (20 часов) реакционную смесь концентрируют в вакууме, после чего растворяют в дистиллированной воде (1 мл), фильтруют через нейлоновый фильтр и наносят на гелевую колонку. Эксклюзионной хроматографией из смеси выделяют чистый продукт **3** (8.6 мг, 0.0124 ммоль, 86%).

MS-ESI C₂₇H₄₅NaO₁₉ [M+H]⁺; вычисл.: 697.2526, найдено: 697.2522.

¹H ЯМР (600 МГц, D₂O): δ 0.94 (3H, t, *J*=7.4 Γц, CH₂CH₂CH₃), 1.21-1.27 (9H, m, H-6 (Fuc, Fuc', Fuc'')), 1.63-1.69 (2H, m, CH₂CH₂CH₃), 3.50-3.55 (2H, m, H-4 (GlcA), OCH*H*'CH), 3.61-3.67 (2H, m, H-2 (GlcA), OC*H*H'CH), 3.78 (1H, t, *J*=9.6 Γц, H-3 (GlcA)), 3.87 (1H, d, *J*=3.0 Γц, H-4(Fuc'')), 3.92-4.01 (4H, m, H-2 (Fuc), H-3 (Fuc), H-2 (Fuc')), 4.04-4.07 (3H, m, H-4 (Fuc), H-3 (Fuc')), H-4 (Fuc')), 4.09-4.12 (2H, m, H-5 (GlcA), H-5 (Fuc)), 4.18 (1H, dd, *J*₂₋₃=7.1 Γц, *J*₃₋₄=3.3 Γц, H-3(Fuc'')), 4.28

(1H, q, $J=6.8 \Gamma \mu$, H-5(Fuc')), 4.36 (1H, q, $J=6.7 \Gamma \mu$, H-5(Fuc'')), 4.94 (1H, d, $J_{1-2}=3.2 \Gamma \mu$, H-1(Fuc)), 5.13 (1H, d, $J_{1-2}=3.8 \Gamma \mu$, H-1(Fuc')), 5.17 (1H, d, $J_{1-2}=3.7 \Gamma \mu$, H-1(Fuc'')), 5.26 (1H, d, $J_{1-2}=3.9 \Gamma \mu$, H-1(GlcA)).

¹³C ЯМР (150.9 МГц, D₂O): δ 11.4 (CH₂CH₂CH₃), 16.6-16.9 (C-6 (Fuc), C-6 (Fuc')), C-6 (Fuc'')), 23.6 (CH₂CH₂CH₃), 67.7 (C-2 (Fuc), C-5 (Fuc)), 67.9 (C-2 (Fuc')), 68.3 (C-5 (Fuc'')), 68.5 (C-5 (Fuc')), 69.5 (C-4 (Fuc)), 69.6 (C-4 (Fuc')), 70.6 (C-3 (Fuc'')), 71.6 (OCH₂CH₂), 73.0 (C-2 (GlcA)), 73.3 (C-4 (GlcA)), 73.7 (C-4 (Fuc'')), 74.2 (C-5 (GlcA)), 74.3 (C-3 (GlcA)), 75.7 (C-3 (Fuc')), 75.9 (C-3 (Fuc)), 77.1 (C-2 (Fuc'')), 96.3 (C-1 (Fuc'')), 96.5 (C-1 (Fuc')), 99.7 (C-1 (Fuc)), 102.1 (C-1 (GlcA)).

Натриевая соль пропил-2,4-ди-*O*-сульфо-3-*O*-(2,4-ди-*O*-сульфо-3-*O*-(2-*O*-(натрия (2,3,4-три-*O*-сульфо-α-D-глюкопиранозил) уронат)-3,4-ди-сульфо-α-Lфукопиранозил)-α-L-фукопиранозил)-α-L-фукопиранозид (4)



К раствору тетрасахарида **3** (5 мг, 0.0072 ммоль) в ДМФА (0.5 мл) в атмосфере аргона при 0°С добавляют навеску 45 экв. (5 экв. на ОН-группу) Ру·SO₃ (51 мг, 0.32 ммоль), а затем микрошприцом 9 экв. (1 экв. на ОН-группу) HSO₃Cl (4.3 мкл, 0.0644 ммоль). Реакционную смесь выдерживают в течение 20 часов при температуре 2-6°С. По окончании реакции в реакционную смесь добавляют $1M_{(aq.)}$ NaHCO₃ до pH=8-9, после чего несколько раз соупаривают с дистиллированной водой. Эксклюзионной хроматографией выделяют чистый продукт **4** (9.5 мг, 0.006 ммоль, 82%).

 $[\alpha]_{D}$ =-15° (c=1, H₂O).

MS-ESI C₂₇H₃₆Na₁₀O₄₆S₉ [M-2Na]²⁻; вычисл.: 783.8578, найдено: 783.8588.

¹H ЯМР (400 МГц, D₂O): δ 0.89 (3H, t, J=7.4 Γц, CH₂CH₂CH₃), 1.25-1.29 (6H, m, H-6 (Fuc), H-6 (Fuc')), 1.33 (3H, d, J_{5-6} =6.5 Γц, H-6 (Fuc'')), 1.56-1.66 (2H, m, CH₂CH₂CH₃), 3.56-3.65 (2H, m, OCH₂CH₂), 4.19 (1H, q, J_{5-6} =6.2 Γц, H-5 (Fuc)), 4.27

(1H, dd, $J_{2-3}=10.2 \Gamma \mu$, $J_{3-4}=2.7 \Gamma \mu$, H-3 (Fuc)), 4.38 (1H, d, $J_{5-6}=6.6 \Gamma \mu$, H-5 (Fuc')), 4.40-4.48 (2H, m, H-3 (Fuc'), H-5 (Fuc'')), 4.49-4.51 (1H, m, H-2 (Fuc'')), 4.51-4.54 (1H, m, H-2 (Fuc)), 4.55-4.58 (1H, m, H-5 (GlcA)), 4.61 (1H, m, H-2 (Fuc')), 4.69 (1H, m, H-2 (GlcA)), 4.83 (1H, d, $J_{3-4}=2.3 \Gamma \mu$, H-4 (Fuc)), 4.90-4.95 (3H, m, H-4 (Fuc'), H-4 (Fuc''), H-4 (GlcA)), 5.0 (1H, dd, $J_{2-3}=10.7 \Gamma \mu$, $J_{3-4}=3.1 \Gamma \mu$, H-3 (Fuc'')), 5.14 (1H, t, $J_{2-3}=4.1 \Gamma \mu$, H-3 (GlcA)), 5.20 (1H, d, $J_{1-2}=3.6 \Gamma \mu$, H-1 (Fuc)), 5.35 (1H, d, $J_{1-2}=3.6 \Gamma \mu$, H-1 (Fuc')), 5.45 (1H, d, $J_{1-2}=3.3 \Gamma \mu$, H-1 (Fuc''), 5.55 (1H, br s, H-1 (GlcA)).

¹³C ЯМР (100.6 МГц, D₂O): δ 12.8 (CH₂CH₂CH₃), 18.6 (C-6 (Fuc), (Fuc'), (Fuc'')), 24.8 (CH₂CH₂CH₃), 69.9 (C-5 (Fuc), C-5 (Fuc'')), 70.5 (C-5 (Fuc')), 72.9 (OCH₂CH₂), 75.2 (C-3 (GlcA), C-4 (GlcA)), 77.2 (C-2 (Fuc''), C-3 (Fuc), C-3 (Fuc'')), 77.9 (C-2 (Fuc)), 79.6 (C-5 (GlcA)), 82.7 (C-4 (Fuc), C-4 (Fuc'), C-4 (Fuc'')), 98.1 (C-1 (Fuc'')), 99.0 (C-1 (GlcA)), 99.4 (C-1 (Fuc)), 100.9 (C-1 (Fuc')).

5.3. Синтез целевых тетрасахаридов 5-7 и пентасахаридов 8-10

5.3.1. Синтез дифукозида 15

Аллил-2-О-бензил-4-О-бензоил-а-L-фукопиранозид (25) [283]

К раствору аллилфукозида 24 (300 мг, 1.47 ммоль) в ДМФА (3 мл) добавляют навеску камфорсульфоновой кислоты. (CSA) (40 мг, 0.12 ммоль), а затем 1.5 экв PhC(OMe)₃ (0.4 мл, 2.21 ммоль). Реакция проходит при перемешивании при t=40°C до полного исчезновения исходного вещества. Реакцию контролируют методом ТСХ (система ПЭ:ЭА 3:1, R_f=0.5). По окончании реакции (1 час) температуру понижают до 0°C с помощью ледяной бани, после чего в реакционную смесь добавляют навеску 2 экв NaH (60%) (120 мг, 3 ммоль). Реакцию выдерживают 30 минут с хлоркальциевой трубкой до окончания газовыделения, после чего добавляют 2 экв. бензил бромида (0.35 мл, 3 ммоль). Реакция проходит при комнатной перемешивании при температуре до полного исчезновения промежуточного продукта. Реакцию контролируют методом ТСХ (система ПЭ:ЭА 3:1, R_f=0.75). По окончании реакции (30 минут) реакционную смесь вновь охлаждают ледяной баней до 0°С и добавляют избыток 80% AcOH_(ас.) (8 мл) до pH=2-3. Реакция проходит при комнатной температуре и перемешивании. По

окончании реакции (10 минут) реакционную смесь разбавляют этилацетатом (100 мл), моют насыщенным раствором NaHCO₃(aq) (150 мл) и дистиллированной водой (2×150 мл). Органический слой отделяют, сушат над Na₂SO_{4(безв.)}, и концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система ПЭ:ЭА 10:1→4:1) из смеси выделяют чистый продукт **25** (496 мг, 1.25 ммоль, 85%).

Аллил-2-*О-пара*-метоксибензил-3-*О*-хлорацетил-4-*О*-бензоил-α-Lфукопиранозид (26)



К раствору аллилфукозида 24 (1 г, 4.9 ммоль) в ДМФА (10 мл) добавляют навеску камфорсульфоновой кислоты. (CSA) (110 мг, 0.47 ммоль), а затем 1.5 экв PhC(OMe)₃ (1.3 мл, 7.35 ммоль). Реакция проходит при перемешивании при t=40°C до полного исчезновения исходного вещества. Реакцию контролируют методом TCX (система ПЭ:ЭА 3:1, $R_f=0.35$). По окончании реакции (40 минут) температуру понижают до 0°C с помощью ледяной бани, после чего в реакционную смесь добавляют навеску 3 экв NaH (60%) (600 мг, 14.7 ммоль). Реакцию выдерживают 30 минут с хлоркальциевой трубкой до окончания газовыделения, после чего добавляют 0.15 экв. тетрабутиламмоний иодида (300 мг, 0.82 ммоль) и 3 экв. параметоксибензил хлорида (2 мл, 14.7 ммоль). Реакция проходит при перемешивании при комнатной температуре до полного исчезновения промежуточного продукта. Реакцию контролируют методом TCX (система ПЭ:ЭА 3:1, R_f=0.5). По окончании реакции (30 минут) реакционную смесь вновь охлаждают ледяной баней до 0°С и добавляют избыток 80% AcOH_(ас.) (20 мл) до pH=2-3. Реакция проходит при комнатной температуре и перемешивании. По окончании реакции (10 минут) реакционную смесь разбавляют этилацетатом (250 мл), моют насыщенным раствором NaHCO_{3(aq)} (250 мл) и дистиллированной водой (2×250 мл). Органический слой отделяют, сушат над Na₂SO_{4(безв.)}, и концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система ПЭ:ЭА 8:1→2:1) из смеси выделяют чистый промежуточный продукт с примесями (2.13 г). Затем к раствору промежуточного продукта в CH₂Cl₂ (15 мл) добавляют 3 экв. пиридина (1.2 мл, 14.7 ммоль), после чего температуру понижают до 0°С с помощью ледяной бани и добавляют 1.5 экв

хлорацетилхлорида (0.6 мл, 7.35 ммоль). Реакция проходит при перемешивании при комнатной температуре. Контроль осуществляется методом TCX (система ПЭ:ЭА 3:1, R_f =0.4). По окончании реакции (10 минут) реакционную смесь разбавляют этилацетатом (100 мл), моют дистиллированной водой (2×150 мл). Органический слой отделяют, сушат над Na₂SO_{4(безв.)}, и концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система ПЭ:ЭА 15:1→6:1) из смеси выделяют чистый продукт **26** (1.95 г, 3.86 ммоль, 79%).

 $[\alpha]_D$ =-122° (c=1, EtOAc).

MS-ESI C₂₆H₂₉ClO₈ [M+Na]⁺; вычисл.: 527.1443, найдено: 527.1444.

¹H ЯМР (600 МГц, CDCl₃): δ 1.18 (3H, d, J_{5-6} =6.6 Гц, H-6), 3.80 (3H, s, OMe), 3.93 (2H, dd, J=14.8 Гц, J=19.8 Гц, C(O)C H_2 Cl), 3.98 (1H, dd, J_{1-2} =3.7 Гц, J_{2-3} =10.3 Гц, H-2), 4.08 (1H, dd, J=6.3 Гц, J=13 Гц, OCHH'CH), 4.22 (1H, dd, J=6.3 Гц, J=13 Гц, OCHH'CH), 4.28 (1H, q, J=6.6 Гц, H-5), 4.56 (1H, d, J=12 Гц, CHH'Ph), 4.64 (1H, d, J=12 Гц, CHH'Ph), 4.93 (1H, d, J_{1-2} =3.6 Гц, H-1), 5.25-5.27 (1H, m, CH₂CH=CHH'), 5.35-5.40 (1H, m, CH₂CH=CHH'), 5.50-5.54 (2H, m, H-3, H-4), 5.93-5.60 (1H, m, CH₂CH=CH₂), 6.8-8.1 (9H, 2xAr).

¹³C ЯМР (150.9 МГц, CDCl₃): δ 15.9 (C-6), 40.6 (C(O)*C*H₂Cl), 55.2 (OMe), 64.3 (C-5), 68.7 (O*C*H₂CH), 71.9 (C-4), 72.3 (C-3), 72.5 (C-2), 72.6 (*C*H₂Ph), 96.4 (C-1), 113.8 (Ar), 118.0 (CH₂CH=CH₂), 128.5 (Ar), 129.6 (Ar), 129.8 (Ar), 133.3 (Ar), 133.7 (CH₂CH=*C*H₂), 166.2 (*C*(O)CH₂Cl), 166.5 (*C*(O)Ph).

Трихлорацетоимидат-2-*О-пара*-метоксибензил-3-*О*-хлорацетил-4-*О*бензоил-α-L-фукопиранозид (27)



К раствору фукозида **26** (1.44 г, 2.85 ммоль) в метаноле (14 мл) добавляют 0.4 экв. дихлорида палладия (200 мг, 1.14 ммоль) и перемешивают до полного исчезновения исходного соединения. Реакцию контролируют методом TCX (система ПЭ:ЭА 2:1, R_f =0.35-0.27 для смеси α и β изомеров). По окончании реакции (1 час) реакционную смесь отфильтровывают через слой целита от Pd⁰, фильтр промывают метанолом. К фильтрату добавляют Et₃N (0.5 мл) и концентрируют его в вакууме. Колоночной хроматографией (система ПЭ:ЭА 6:1 \rightarrow 2:1) из смеси выделяют полуацеталь в виде смеси α и β -изомеров. К раствору полученных полуацеталей (1.052 г, 2,26 ммоль) в абсолютном CH₂Cl₂ (15 мл) добавляют навеску 3 экв. карбоната цезия (2.2 г, 6.78 ммоль) и 5 экв. трихлорацетонитрила (1.15 мл, 11.3 ммоль). Реакционную смесь интенсивно перемешивают при комнатной температуре до полного исчезновения полуацеталей. Реакцию контролируют методом TCX (система ПЭ:ЭА 2:1, пластинки пассивированы Et₃N, R_f=0.73 и 0.55 для α и β изомеров соответственно). По окончании реакции (30 минут) реакционную смесь отфильтровывают через слой целита от карбоната цезия, фильтр промывают ЭА. Фильтрат концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система ПЭ:ЭА 10:1 \rightarrow 4:1, колонка обработана 0,01 M раствора Et₃N в толуоле) из смеси выделяют трихлорацетимидат **27** в виде смеси α (420 мг, 0.692 ммоль, 24%) и β (900 мг, 1.48 ммоль, 52%) изомеров. Общий выход 76%, соотношение α : β ~1:2.

α-изомер:

MS-ESI C₂₅H₂₅Cl₄NO₈ [M+Na]⁺; вычисл.: 630.0226, найдено: 630.0233.

¹H ЯМР (600 МГц, CDCl₃): δ 1.14 (3H, d, J_{5-6} =6.5 Гц, H-6), 3.69 (3H, s, OMe), 3.85 (2H, d, J=1.7 Γц, C(O)C H_2 Cl), 4.04-4.08 (1H, m, H-2), 4.37 (1H, q, J=6.2 Γц, H-5), 4.52 (2H, q, J=11.6, J=6.7, C H_2 Ph), 5.44 (1H, dd, J_{2-3} =10.5 Γц, J_{3-4} =3.3 Гц, H-3), 5.51-5.55 (1H, m, H-4), 6.47 (1H, d, J_{1-2} =3.6 Γц, H-1), 6.7-8.0 (9H, 2xAr), 8.57 (1H, s, NH).

¹³C ЯМР (100.6 МГц, CDCl₃): δ 16.2 (C-6), 40.7 (C(O)*C*H₂Cl), 55.3 (OMe), 67.6 (C-5), 71.3 (C-4), 71.9 (C-2), 72.1 (C-3), 72.7 (*C*H₂Ph), 94.7 (C-1), 114.0 (Ar), 128.7 (Ar), 129.5 (Ar), 129.9 (Ar), 133.6 (Ar), 166.2 (*C*(O)*C*H₂Cl), 166.6 (*C*(O)Ph).

β-изомер:

MS-ESI C₂₅H₂₅Cl₄NO₈ [M+Na]⁺; вычисл.: 630.0226, найдено: 630.0230.

¹H ЯМР (600 МГц, CDCl₃): δ 1.27 (3H, d, J_{5-6} =6.4 Гц, H-6), 3.67 (3H, s, OMe), 3.76 (2H, q, J=15 Гц), 3.91 (1H, dd, J_{1-2} =8.1 Γц, J_{2-3} =10.1 Гц, H-2), 3.97-4.02 (1H, m, H-5), 4.51 (1H, d, J=10.9 Γц, CHH'Ph), 4.74 (1H, d, J=10.9 Γц, CHH'Ph), 5.12 (1H, dd, J_{2-3} =10.1 Гц, J_{3-4} =3.5 Гц, H-3), 5.40 (1H, dd, J_{3-4} =3.5 Гц, J_{4-5} =0.9 Гц, H-4), 5.80 (1H, d, J_{1-2} =8.1 Гц, H-1), 6.7-8.0 (9H, 2xAr), 8.68 (1H, s, NH). ¹³C ЯМР (100.6 МГц, CDCl₃): δ 16.2 (C-6), 40.5 (C(O)*C*H₂Cl), 55.3 (OMe), 70.3 (C-5), 70.9 (C-4), 74.8 (C-3, *C*H₂Ph), 75.0 (C-2), 98.4 (C-1), 113.9 (Ar), 128.7 (Ar), 129.7 (Ar), 130.0 (Ar), 133.6 (Ar), 166.3 (*C*(O)CH₂Cl), 166.6 (*C*(O)Ph).

Аллил-2-*О*-бензил-3-*О*-(2-*О-пара*-метоксибензил-3-*О*-хлорацетил-4-*О*бензоил-α-L-фукопиранозил)-4-*О*-бензоил-α-L-фукопиранозид (15)



К раствору акцептора **25** (250 мг, 0.628 ммоль) и донора **27** (420 мг, 0.692 ммоль, 1.1 экв) в абсолютном CH₂Cl₂ (7 мл) в атмосфере аргона прибавляют молекулярные сита MS-4Å (500 мг) (прокаленные при 200°С на вакууме в течение 2 часов), и перемешивают в течение 30 минут. Затем к реакционной смеси, охлажденной до -40°С с помощью ацетоновой бани, микрошприцом добавляют 0.05 экв. TMSOTf (5 мкл, 0.026 ммоль). Реакционную смесь выдерживают при постоянном перемешивании в интервале температур от -40°С до -20°С. Реакцию контролируют методом TCX (система ПЭ:ЭА 3:1, R_f =0.5). По окончании реакции (30 минут) в реакционную смесь добавляют Et₃N (0.3 мл), после чего реакционную смесь фильтруют на стеклянном фильтре через слой силикагеля, фильтр промывают ЭА. Фильтрат концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система ПЭ:ЭА 8:1→4:1) из смеси выделяют чистый α-продукт **15** (505 мг, 0.6 ммоль, 95%).

 $[\alpha]_D$ =-229° (c=1, EtOAc).

MS-ESI C₄₆H₄₉ClO₁₃ [M+Na]⁺; вычисл.: 867.2754, найдено: 867.2745.

¹H ЯМР (600 МΓц, CDCl₃): δ 1.01 (3H, d, J_{5-6} =6.5 Γц, H-6 (Fuc')), 1.20 (3H, d, J_{5-6} =6.6 Γц, H-6 (Fuc)), 3.77 (3H, s, OMe), 3.79 (2H, dd, J=48.5 Γц, J=15.0 Γц, CH₂Cl), 3.93 (1H, dd, J_{1-2} =3.5 Γц, J_{2-3} =10.5 Γц, H-2 (Fuc')), 4.08 (1H, dd, J_{1-2} =3.7 Γц, J_{2-3} =10.2 Γц, H-2 (Fuc)), 4.13 (1H, dd, J=6.3 Γц, J=13.1 Γц, OCHH'CH), 4.21 (1H, q, J=6.5 Γц, H-5 (Fuc)), 4.23-4.28 (2H, m, OCHH'CH, CHH'PhOMe), 4.39-4.44 (2H, m, H-3 (Fuc), CHH'PhOMe), 4.48 (1H, q, J=6.5 Γц, H-6 (Fuc')), 4.78 (2H, dd, J=11.3 Γц, J=26.1 Γц, CH₂Ph), 5.06 (1H, d, J_{1-2} =3.7 Γц, H-1 (Fuc)), 5.28 (1H, dd, J=1.3 Γц, J=10.4 Γц,

СH₂CH=C*H*H'), 5.32 (1H, d, $J_{3.4}$ =3.3 Гц, H-4 (Fuc')), 5.34 (1H, d, $J_{1.2}$ =3.5 Гц, H-1 (Fuc')), 5.41 (1H, dd, J=1.6 Гц, J=17.2 Гц, CH₂CH=CH*H*'), 5.50 (1H, dd, $J_{2.3}$ =10.5 Гц, $J_{3.4}$ =3.3 Гц, H-3 (Fuc')), 5.68 (1H, d, $J_{3.4}$ =3.3 Гц, H-4 (Fuc)), 5.97-6.05 (1H, m, CH₂C*H*=CH₂), 6.71 (2H, d, J=8.6 Гц, *m*-MBn), 7.04 (2H, d, J=8.6 Гц, *o*-MBn), 7.32-7.50 (9H, m, 2xBz, Bn), 7.57 (1H, t, J=7.4 Гц, p-Bz), 7.62 (1H, t, J=7.5 Гц, p-Bz), 7.97 (2H, d, J=7.1 Гц, *o*-Bz), 8.04 (2H, d, J=7.1 Гц, *o*-Bz).

¹³C ЯМР (150.9 МГц, CDCl₃): δ 15.9 (C-6 (Fuc')), 16.3 (C-6 (Fuc)), 40.6 (CH₂Cl), 55.2 (OMe), 64.6 (C-5 (Fuc')), 65.0 (C-5 (Fuc)), 68.5 (OCH₂CH), 69.7 (C-4 (Fuc)), 70.5 (C-3 (Fuc)), 71.7 (C-2 (Fuc')), 71.9 (CH₂PhOMe), 72.0 (C-4 (Fuc')), 72.3 (C-3 (Fuc')), 74.6 (C-2 (Fuc)), 93.0 (C-1 (Fuc')), 96.2 (C-1 (Fuc)), 113.5 (*m*-MBn), 117.7 (CH₂CH=CH₂), 127.9-130.0 (Ar), 133.0 (*p*-Bz), 133.2 (*p*-Bz), 134.0 (CH₂CH=CH₂), 138.0 (Bn), 159.1 (*p*-MBn), 166.2 (*C*(O)CH₂Cl), 166.4 (*C*(O)Ph), 166.5 (*C*(O)Ph).

5.3.2. Синтез глюкуронил-доноров 16 и 18

Аллил-β-D-глюкопиранозид (29) [292]



К раствору пентаацетата глюкозы 28 (2.5 г, 6.4 ммоль) в CH₂Cl₂ (14 мл) добавляют 1.5 экв аллилового спирта (0.65 г, 9.6 ммоль), после чего температуру понижают до 0°С с помощью ледяной бани и постепенно добавляют 1.5 экв эфирата трехфтористого бора (1.2 мл, 9.6 ммоль). Реакция проходит при перемешивании и охлаждении на начальном этапе реакции, затем при комнатной температуре. Реакцию контролируют методом TCX (система Tol:ЭА 4:1, R_f=0.15). По окончании реакции (36 часов) в реакционную смесь при охлаждении с помощью ледяной бани добавляют избыток Et₃N (1.6 мл, 1.2 экв. относительно BF₃·Et₂O), после чего реакционную смесь разбавляют этилацетатом (200 мл) и моют дистиллированной водой (2×250 мл). Органический слой отделяют, сушат над Na₂SO_{4(безв.)}, и концентрируют в вакууме. Полученный остаток растворяют в метаноле (10 мл) и при охлаждении с помощью ледяной бани прикапывают метилат натрия (2 мл, 0.1 М p-p в MeOH). Реакция проходит при комнатной температуре до полного исчезновения промежуточного продукта. Реакцию контролируют методом TCX (системы ЭА $R_f=0.15$; CH₂Cl₂:MeOH:H₂O 10:5:1, R_f=0.7). По окончании реакции (10 минут) в реакционную смесь добавляют

ионообменную смолу IR-120 в H⁺ форме до нейтрального pH, после чего реакционную смесь фильтруют на стеклянном фильтре. Фильтрат концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система ЭА:*i*PrOH 7:3) из смеси выделяют чистый продукт **29** (1.06 г, 4.8 ммоль, 75%).

Аллил-2,3,4-три-О-бензил-β-D-глюкопиранозид (30) [293]

К раствору аллилглюкозида **29** (1.06 г, 4.8 ммоль) в CH₂Cl₂ (20 мл) добавляют навеску 1.3 экв. тритилхлорида. (1.74 г, 6.25 ммоль), а затем 1.3 экв пиридина (0.5 мл, 6.25 ммоль). Реакция проходит при комнатной температуре до полного исчезновения исходного вещества. Реакцию контролируют методом ТСХ (ЭА, R_f=0.6). По окончании реакции (30 минут) реакционную смесь разбавляют этилацетатом (250 мл) и моют дистиллированной водой (2×250 мл). Органический слой отделяют, сушат над Na₂SO_{4(безв.)}, и концентрируют в вакууме. Полученный продукт растворяют в ДМФА (10 мл) и при охлаждении с помощью ледяной бани добавляют навеску 3.3 экв NaH (60%) (640 мг, 16 ммоль). Реакцию выдерживают 30 минут с хлоркальциевой трубкой до окончания газовыделения, после чего добавляют 3.3 экв. бензил бромида (1.9 мл, 16 ммоль). Реакция проходит при перемешивании при комнатной температуре до полного исчезновения промежуточного продукта. Реакцию контролируют методом TCX (система Tol:ЭА 1:1, R_f=0.65). По окончании реакции (30 минут) реакционную смесь разбавляют этилацетатом (250 мл), моют насыщенным раствором NaHCO_{3(аq)} (250 мл) и дистиллированной водой (2×250 мл). Органический слой отделяют, сушат над Na₂SO_{4(безв.)}, и концентрируют в вакууме. Промежуточный продукт очищают колоночной хроматографией (система Tol:ЭА 5:1→1:1), после чего растворяют в CH₂Cl₂ (10 мл) и добавляют к раствору TFA (90% ад.) (0.5 мл). Реакция проходит при комнатной температуре до полного исчезновения исходного вещества. Реакцию контролируют методом TCX (Tol:ЭА, R_f=0.5). По окончании реакции (15 минут) в реакционную смесь добавляют Tol (20 мл) и концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система Tol:ЭА 3:1→1:1) из смеси выделяют чистый продукт 30 (1.84 г, 3.75 ммоль, 78%).

Метил (аллил-2,3,4-три-О-бензил-β-D-глюкопиранозил) уронат (31) [293]

К смеси из раствора моносахарида **30** (970 мг, 2.26 ммоль) в CH₂Cl₂ (20 мл) и дистиллированной воды (10 мл) добавляют навеску 0.25 экв ТЕМРО (90 мг, 0.565 ммоль) и навеску 4 экв BAIB (2.5 г, 9 ммоль). Реакция проходит при интенсивном перемешивании при комнатной температуре. Реакцию контролируют методом ТСХ (система Tol:ЭА 1:1, R_f=0.25). По окончании реакции (30 минут) реакционную смесь разбавляют этилацетатом (200 мл) и моют Na₂S₂O_{3(au)} (250 мл) и дистиллированной водой (2×250 мл). Органический слой отделяют, сушат над Na₂SO_{4(безв.)} и концентрируют в вакууме. Полученный остаток растворяют в ДМФА (10 мл) и добавляют навеску 3 экв. карбоната калия (970 мг, 6.8 ммоль) и 5 экв. метил иодида (0.73 мл, 11.3 ммоль). Реакция проходит при комнатной температуре и интенсивном перемешивании. Реакцию контролируют методом ТСХ (системы Tol:ЭА $R_f=0.8$; ПЭ:ЭА 2:1, $R_f=0.4$). По окончании реакции (30 минут) реакционную смесь разбавляют этилацетатом (200 мл) и моют дистиллированной водой (2×250 мл). Органический слой отделяют, сушат над Na₂SO_{4(безв}) и концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система ПЭ:ЭА 6:1→2:1) из смеси выделяют чистый продукт **31** (1.04 г, 2.01 ммоль, 89%).

Метил (трихлорацетоимидат-2,3,4-три-*O*-бензил-α,β-D-глюкопиранозил) уронат (16)

К раствору уроната **31** (1.04 г, 2.01 ммоль) в метаноле (5 мл) добавляют 0.4 экв. дихлорида палладия (143 мг, 0.8 ммоль) и перемешивают до полного исчезновения исходного соединения. Реакцию контролируют методом TCX (система Tol:ЭA 2:1, R_f=0.55). По окончании реакции (1 час) реакционную смесь отфильтровывают через слой целита от Pd⁰, фильтр промывают метанолом. К фильтрату добавляют Et₃N (0.3 мл) и концентрируют его в вакууме. Колоночной хроматографией (система Tol:ЭA 5:1 \rightarrow 3:1) из смеси выделяют полуацеталь (780 мг, 1.63 ммоль) в виде смеси α и β -изомеров. Затем к раствору полуацеталя в абсолютном CH₂Cl₂ (10 мл) добавляют навеску 3 экв. карбоната цезия (1.6 г, 4.9 ммоль) и 5 экв. трихлорацетонитрила (815 мкл, 8.15 ммоль). Реакционную смесь интенсивно перемешивают при комнатной температуре до полного исчезновения полуацеталей. Реакцию контролируют методом TCX (система Tol:ЭA 2:1, пластинки пассивированы Et_3N , R_f =0.6). По окончании реакции (30 минут) реакционную смесь отфильтровывают через слой целита от карбоната цезия, фильтр промывают ЭА. Фильтрат концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система Tol:ЭA 5:1, колонка обработана раствором 0.01 M Et_3N в толуоле) из смеси выделяют трихлорацетимидат **16** (978 мг, 1.57 ммоль, 78%) в виде смеси α и β -изомеров в соотношении 2:3.

MS-ESI C₃₀H₃₀Cl₃NO₇ [M+Na]⁺; вычисл.: 644.0980, найдено: 644.0977. α-изомер:

¹H ЯМР (400 МΓц, CDCl₃): δ 3.70 (3H, s, OMe), 3.80 (1H, dd, $J_{1-2}=3.4$ Γц, $J_{2-3}=9.4$ Γц, H-2), 3.84 (1H, t, J=9.5 Γц, H-4), 4.07 (1H, t, J=9.3 Γц, H-3), 4.42 (1H, d, $J_{4-5}=10.1$ Γц, H-5), 4.60 (1H, d, J=10.8 Γц, CHH'Ph), 4.72 (2H, q, J=11.7 Γц, CH₂Ph), 4.82 (1H, d, J=6.5 Γц, CHH'Ph), 4.85 (1H, d, J=6.7 Γц, CHH'Ph), 4.96 (1H, d, J=11.0 Γц, CHH'Ph), 6.52 (1H, d, $J_{1-2}=3.5$ Γц, H-1), 7.23-7.35 (15H, m, 3xBn).

¹³C ЯМР (100.6 МГц, CDCl₃): δ 52.5 (OMe), 72.5 (C-5), 73.1 (*C*H₂Ph), 75.4 (*C*H₂Ph), 75.7 (*C*H₂Ph), 78.8 (C-2), 78.9 (C-4), 80.7 (C-3), 94.0 (C-1), 127.6-128.4 (3xBn), 137.7 (2xBn), 138.3 (Bn), 161.0 (C-6).

β-изомер:

¹Н ЯМР (400 МГц, CDCl₃): 3.72 (3H, s, OMe), 3.78-3.84 (2H, m, H-2, H-3), 3.94 (1H, t, *J*=9.3 Гц, H-4), 4.12 (1H, d, *J*₄₋₅=9.5 Гц, H-5), 4.62 (1H, d, *J*=10.9 Гц, *CH*H'Ph), 4.75 (1H, d, *J*=10.9 Гц, CHH'Ph), 4.79 (1H, d, *J*=10.7 Гц, *CH*H'Ph), 4.82 (1H, d, *J*=10.8 Гц, CHH'Ph), 4.88 (1H, d, *J*=11.1 Гц, *CH*H'Ph), 4.93 (1H, d, *J*=10.9 Гц, CHH'Ph), 5.86-5.92 (1H, m, H-1), 7.22-7.35 (15H, m, 3xBn).

¹³C ЯМР (100.6 МГц, CDCl₃): δ 52.5 (OMe), 74.8 (CH₂Ph), 74.8 (C-5), 75.0 (CH₂Ph), 75.5 (CH₂Ph), 78.7 (C-4), 80.4 (C-2), 83.6 (C-3), 98.0 (C-1), 127.7-128.4 (3xBn), 137.7 (2xBn), 138.1 (Bn), 160.9 (C-6).

Аллил-2,3-ди-О-бензил-β-D-глюкопиранозид (32) [294]



К раствору аллилглюкозида 29 (1.06 г, 4.8 ммоль) в ДМФА (20 мл) добавляют навеску камфорсульфоновой кислоты. (CSA) (220 мг, 0.94 ммоль), а затем 1.5 экв PhCH(OMe)₂ (1.1 мл, 7.2 ммоль). Реакция проходит при перемешивании при t=40°C до полного исчезновения исходного вещества. Реакцию контролируют методом TCX (системаЭА:MeOH 2:1, R_f=0.85). По окончании реакции (1 час) температуру понижают до 0°C с помощью ледяной бани, после чего в реакционную смесь добавляют навеску 7 экв NaH (60%) (1.35 г, 33.6 ммоль). Реакцию выдерживают 30 минут с хлоркальциевой трубкой до окончания газовыделения, после чего добавляют 4 экв. бензил бромида (2.3 мл, 19.2 ммоль). Реакция проходит при перемешивании комнатной температуре при до полного исчезновения промежуточного продукта. Реакцию контролируют методом ТСХ (система ПЭ:ЭА 3:1, R_f=0.7). По окончании реакции (30 минут) реакционную смесь вновь охлаждают ледяной баней до 0°С и добавляют избыток 90% TFA_(ад.) (20 мл) до pH=2-3. Реакция проходит при комнатной температуре и перемешивании, контроль осуществляется методом TCX (система ПЭ:ЭА 3:1, R_f=0.15). По окончании реакции (20 минут) реакционную смесь разбавляют этилацетатом (250 мл), моют насыщенным раствором NaHCO_{3(ад)} (250 мл) и дистиллированной водой (2×250 мл). Органический слой отделяют, сушат над Na₂SO_{4(безв.)}, и концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система ПЭ:ЭА 4:1→1:1) из смеси выделяют чистый продукт 32 (1.4 г, 3.5 ммоль, 73%).

Метил (аллил-2,3-ди-О-бензил-β-D-глюкопиранозил) уронат (33)

К смеси из раствора моносахарида **32** (1.115 г, 2.8 ммоль) в CH₂Cl₂ (20 мл) и дистиллированной воды (10 мл) добавляют навеску 0.25 экв ТЕМРО (110 мг, 0.7 ммоль) и навеску 4 экв ВАІВ (3.1 г, 11.2 ммоль). Реакция проходит при интенсивном перемешивании при комнатной температуре. Реакцию контролируют методом TCX (система Tol:ЭА 1:1, R_f =0.15). По окончании реакции (30 минут) реакционную смесь разбавляют этилацетатом (200 мл) и моют Na₂S₂O_{3(aq)} (250 мл) и дистиллированной водой (2×250 мл). Органический слой отделяют, сушат над Na₂SO_{4(безв.)} и концентрируют в вакууме. Полученный остаток растворяют в ДМФА (10 мл) и добавляют навеску 3 экв. карбоната калия (1.2 г, 8.4 ммоль) и 5 экв. метил

иодида (0.9 мл, 14 ммоль). Реакция проходит при комнатной температуре и интенсивном перемешивании. Реакцию контролируют методом TCX (системы Tol:ЭA R_f =0.8; ПЭ:ЭА 2:1, R_f =0.4). По окончании реакции (30 минут) реакционную смесь разбавляют этилацетатом (200 мл) и моют дистиллированной водой (2×250 мл). Органический слой отделяют, сушат над Na₂SO_{4(безв.)} и концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система ПЭ:ЭА 6:1→2:1) из смеси выделяют чистый продукт **33** (1 г, 2.34 ммоль, 84%).

 $[\alpha]_{D} = 8.6^{\circ} (c=1, EtOAc).$

MS-ESI C₂₄H₂₈O₇ [M+Na]⁺; вычисл.: 451.1727, найдено: 451.1729.

¹H ЯМР (600 МГц, CDCl₃): δ 3.48-3.55 (2H, m, H-2, H-3), 3.79-3.91 (5H, m, H-4, H-5, OMe), 4.15-4.19 (1H, m, OCHH'CH), 4.45 (1H, dd, *J*=5.2 Гц, *J*=12.9 Гц, OCHH'CH), 4.53 (1H, d, *J*₁₋₂=7.2 Гц, H-1), 4.74 (1H, d, *J*=11.3 Гц, CHH'Ph), 4.82 (1H, d, *J*=11.3, CHH'Ph), 4.89-4.96 (2H, m, 2xCHH'Ph), 5.24 (1H, d, *J*=10.4 Гц, CH₂CH=CHH'), 5.36 (1H, d, *J*=17.2 Гц, CH₂CH=CHH'), 5.92-5.99 (1H, m, CH₂CH=CH₂), 7.26-7.40 (10H, 2xAr).

¹³C ЯМР (100.6 МГц, CDCl₃): δ 52.7 (OMe), 70.6 (OCH₂CH), 71.8 (C-4), 74.3 (C-5), 75.0 (CH₂Ph), 75.4 (CH₂Ph), 81.2 (C-2), 83.3 (C-3), 102.9 (C-1), 117.7 (CH₂CH=CH₂), 127.7-128.5 (Ar), 133.7 (CH₂CH=CH₂), 169.8 (C-6).

Метил (аллил-2,3-ди-*O*-бензил-4-*O*-(*трет*бутил-ди-метил)-силил-β-Dглюкопиранозил) уронат (34)



К раствору уроната **33** (0.96 г, 2.24 ммоль) в ДМФА (10 мл) добавляют навески 2.3 экв. имидазола (350 мг, 5.15 ммоль) и 2 экв TBDMSCl (680 мг, 4.48 ммоль). Реакция проходит при перемешивании при комнатной температуре до полного исчезновения исходного вещества. Реакцию контролируют методом TCX (система ПЭ:ЭА 3:1, R_f =0.9). По окончании реакции (3 суток) реакционную смесь разбавляют этилацетатом (100 мл), моют дистиллированной водой (2×150 мл). Органический слой отделяют, сушат над Na₂SO_{4(безв.)}, и концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система ПЭ:ЭА 20:1) из смеси выделяют чистый продукт **34** (1.14 г, 2.1 ммоль, 94%).

MS-ESI C₃₀H₄₂O₇Si [M+Na]⁺; вычисл.: 565.2592, найдено: 565.2587.

¹H ЯМР (600 МГц, CDCl₃): δ 0.01 (6H, s, Si(CH₃)₂C(CH₃)₃), 0.86 (9H, s, Si(CH₃)₂C(CH₃)₃), 3.47 (1H, t, *J*=8.7 Гц, H-3), 3.54 (1H, t, *J*=8.7 Гц, H-2), 3.79 (3H, s, OMe), 3.85 (1H, t, *J*=9.3 Гц, H-5), 3.94 (1H, t, *J*=9 Гц, H-4), 4.12 (1H, dd, *J*=6.2 Гц, *J*=12.9 Гц, OCHH'CH), 4.42 (1H, dd, *J*=5 Гц, *J*=12.7 Гц, OCHH'CH), 4.53 (1H, d, *J*₁. 2=7.7 Гц, H-1), 4.62 (1H, d, *J*=10.8 Гц, CHH'Ph), 4.71 (1H, d, *J*=11.5 Гц, CHH'Ph), 4.93 (1H, d, *J*=10.7 Гц, CHH'Ph), 5.02 (1H, d, *J*=11.4 Гц, CHH'Ph), 5.21 (1H, d, *J*=11.1 Гц, CH₂CH=CHH'), 5.33 (1H, dd, *J*=1.33 Гц, *J*=17.2 Гц, CH₂CH=CHH'), 5.89-5.96 (1H, m, CH₂CH=CH₂), 7.20-7.34 (10H, 2xAr).

¹³C ЯМР (100.6 МΓц, CDCl₃): δ -5.2 (Si(CH₃)(CH₃)^tBu), -3.9 (Si(CH₃)(CH₃)^tBu), 18.0 (SiC(CH₃)₃), 25.8 (SiC(CH₃)₃), 52.3 (OMe), 70.5 (OCH₂CH), 72.3 (C-4), 74.7 (CH₂Ph), 75.0 (CH₂Ph), 76.7 (C-5), 82.2 (C-2), 84.0 (C-3), 102.9 (C-1), 117.6 (CH₂CH=CH₂), 127.0-129.8 (2xAr), 133.8 (CH₂CH=CH₂), 138.3 (Bn), 138.8 (Bn), 169.0 (C-6).

Метил (трихлорацетоимидат-2,3-ди-*O*-бензил-4-*O*-(*трет*бутил-ди-метил)силил-α,β-D-глюкопиранозил) уронат (18)



К раствору моносахарида **34** (1.14 г, 2.1 ммоль) в метаноле (10 мл) добавляют 0.4 экв. дихлорида палладия (190 мг, 0.84 ммоль) и перемешивают до полного исчезновения исходного соединения. Реакцию контролируют методом TCX (система ПЭ:ЭА 3:1, R_f =0.55). По окончании реакции (1 час) реакционную смесь отфильтровывают через слой целита от Pd⁰, фильтр промывают метанолом. К фильтрату добавляют Et₃N (0.5 мл) и концентрируют его в вакууме. Колоночной хроматографией (система ПЭ:ЭА 8:1→6:1) из смеси выделяют полуацеталь в виде смеси α и β -изомеров. К раствору полученных полуацеталей (807 г, 1.6 ммоль) в абсолютном CH₂Cl₂ (10 мл) добавляют навеску 3 экв. карбоната цезия (1.56 г, 4.8 ммоль) и 5 экв. трихлорацетонитрила (0.8 мл, 8 ммоль). Реакционную смесь интенсивно перемешивают при комнатной температуре до полного исчезновения полуацеталей. Реакцию контролируют методом TCX (система ПЭ:ЭА 5:1, пластинки пассивированы Et₃N, R_f =0.55). По окончании реакции (30 минут) реакционную смесь отфильтровывают через слой целита от карбоната цезия, фильтр промывают ЭА. Фильтрат концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система ПЭ:ЭА 20:1 \rightarrow 15:1, колонка обработана 0,01 М раствора Et₃N в толуоле) из смеси выделяют трихлорацетимидат **18** в виде смеси α и β -изомеров (977 мг, 1.51 ммоль, 72%), соотношение α : β ~9:1.

MS-ESI C₂₉H₃₈Cl₃NO₇Si [M+Na]⁺; вычисл.: 668.1375, найдено: 668.1371.

¹H *Я*MP (600 MΓц, CDCl₃): δ -0.08 (6H, s, Si(CH₃)₂C(CH₃)₃ α), -0.06 (6H, s, Si(CH₃)₂C(CH₃)₃ β), 0.76 (9H, s, Si(CH₃)₂C(CH₃)₃ β), 0.77 (9H, s, Si(CH₃)₂C(CH₃)₃ α), 3.81 (1H, t, *J*=8.1 Γц, H-3 β), 3.63-3.80 (9H, m, H-2 β, H-2 α, H-3 α, OMe α, OMe β), 3.88 (1H, t, *J*=8.8 Γц, H-4 α), 3.99-4.10 (2H, m, H-4 β, H-5 β), 4.24 (1H, d, *J*₄₋₅=9.5 Γц, H-5 α), 4.46-4.71 (5H, m, CH₂Ph α, CHH'Ph α, CH₂Ph β), 4.79-5.00 (3H, m, CHH'Ph α, CH₂Ph β), 5.87 (1H, d, *J*₁₋₂=7.4 Γц, H-1 β), 6.43 (1H, d, *J*₁₋₂=2.9 Γц, H-1 α), 7.09-7.28 (20H, 2xAr α, 2xAr β), 8.56 (1H, s, NH, α), 8.65 (1H, s, NH, β).

¹³C ЯМР (100.6 МГц, CDCl₃): δ -5.2 (Si(*C*H₃)(CH₃)^tBu α), -5.2 (Si(*C*H₃)(CH₃)^tBu β), -4.0 (Si(CH₃)(*C*H₃)^tBu β), -3.9 (Si(CH₃)(*C*H₃)^tBu α), 18.0 (Si*C*(CH₃)₃ β), 18.0 (Si*C*(CH₃)₃ α), 25.8 (Si*C*(*C*H₃)₃ α), 25.8 (Si*C*(*C*H₃)₃ β), 52.4 (OMe β), 52.5 (OMe, α), 71.8 (C-4 β), 71.9 (C-4, α), 73.0 (*C*H₂Ph α), 74.4 (*C*H₂Ph β), 74.6 (C-5 α, *C*H₂Ph β), 75.1 (*C*H₂Ph α), 76.8 (C-5 β), 79.4 (C-2 α), 80.4 (C-2 β), 80.6 (C-3 α), 84.0 (C-3 β), 93.9 (C-1 α), 97.9 (C-1 β), 127.0-128.5 (2xAr α, 2xAr β), 137.6 (Bn α), 137.7 (Bn β), 138.5 (Bn β), 138.7 (Bn α), 168.7 (C-6 β), 169.2 (C-6 α).

5.3.3. Синтез целевых тетрасахаридов 5-7

Аллил-2-*О*-бензил-3-*О*-(3-*О*-хлорацетил-4-*О*-бензоил-α-L-фукопиранозил)-4-*О*-бензоил-α-L-фукопиранозид (35)



К раствору дисахарида **15** (580 мг, 0.69 ммоль) в DCM (8 мл) по каплям прибавляют 90% TFA_(аq.) (0.8 мл). Реакция проходит при комнатной температуре, контроль осуществляется методом TCX (система Tol:ЭA 6:1, R_f=0.55). По окончании реакции (10 минут) реакционную смесь соупаривают с Tol (30 мл). Колоночной хроматографией (система ПЭ:ЭA 7:1 \rightarrow 4:1) из смеси выделяют чистый продукт **35** (480 мг, 3.5 ммоль, 96%).

 $[\alpha]_D$ =-210° (c=1, EtOAc).

MS-ESI C₃₈H₄₁ClO₁₂ [M+Na]⁺; вычисл.: 747.2184, найдено: 747.2179.

¹H ЯМР (600 МΓц, CDCl₃): δ 0.91 (3H, d, J_{5-6} =6.5 Γц, H-6 (Fuc')), 1.22 (3H, d, J_{5-6} =6.5 Γц, H-6 (Fuc)), 2.56 (1H, br s, 2-OH), 3.93-4.02 (3H, m, H-2 (Fuc), C(O)CH₂Cl), 4.05-4.14 (2H, m, H-2 (Fuc'), OCHH'CH), 4.18-4.27 (2H, m, H-5 (Fuc'), OCHH'CH), 4.46-4.38 (2H, m, H-3 (Fuc), H-5 (Fuc)), 4.63-4.70 (2H, m, CH₂Ph), 5.08 (1H, d, J_{1-2} =3.5 Γц, H-1 (Fuc)), 5.21-5.31 (4H, m, H-1 (Fuc'), H-3 (Fuc'), H-4 (Fuc'), CH₂CH=CHH'), 5.37-5.42 (1H, m, CH₂CH=CHH'), 5.54 (1H, d, J_{3-4} =5.5 Γц, H-4 (Fuc)), 5.94-6.02 (1H, m, CH₂CH=CH₂), 6.88 (1H, d, J=8.6 Γц, Bn), 7.26-7.65 (10H, 3xAr), 8.05 (2H, d, J=7.5 Γц, Bz), 8.10 (2H, d, J=7.5 Γц, Bz).

¹³C ЯМР (100.6 МГц, CDCl₃): δ 15.7 (C-6 (Fuc)), 16.3 (C-6 (Fuc³)), 40.6 (C(O)CH₂Cl), 64.9 (C-5 (Fuc³)), 65.3 (C-5 (Fuc)), 66.8 (C-2 (Fuc³)), 68.6 (OCH₂CH), 71.5 (C-4 (Fuc)), 71.6 (C-4 (Fuc³)), 72.8 (CH₂Ph), 73.1 (C-3 (Fuc)), 73.2 (C-3 (Fuc³)), 74.8 (C-2 (Fuc)), 96.0 (C-1 (Fuc)), 96.6 (C-1 (Fuc³)), 117.8 (CH₂CH=CH₂), 128.0-130.9 (3xAr), 133.3 (*p*-Bz), 133.7 (*p*-Bz), 133.8 (CH₂CH=CH₂), 137.8 (Bn), 166.2 (*C*(O)Ph), 167.0 (*C*(O)Ph), 167.3 (*C*(O)CH₂Cl).

Аллил-2-*О*-бензил-3-*О*-(2-*О*-[Метил (2,3,4-три-*О*-бензил-α,β-Dглюкопиранозил) уронат]-3-*О*-хлорацетил-4-*О*-бензоил-α-L-фукопиранозил)-4-*О*-бензоил-α-L-фукопиранозид (36)



К раствору акцептора **35** (133 мг, 0.185 ммоль) и донора **16** (115 мг, 0.185 ммоль) в абсолютном CH_2Cl_2 (5 мл) в атмосфере аргона прибавляют молекулярные сита MS-4Å (400 мг) (прокаленные при 200°С на вакууме в течение 2 часов), и перемешивают в течение 30 минут. Затем к реакционной смеси, охлажденной до - 40°С с помощью ацетоновой бани, микрошприцом добавляют 0.15 экв. TMSOTf (5 мкл, 0.052 ммоль). Реакционную смесь выдерживают при постоянном перемешивании в интервале температур от -40°С до -20°С. Реакцию контролируют методом TCX (система Tol:ЭА 10:1, R_f =0.4). По окончании реакции (1 час) в
реакционную смесь добавляют Et_3N (0.2 мл), после чего реакционную смесь фильтруют на стеклянном фильтре через слой силикагеля, фильтр промывают ЭА. Фильтрат концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система Tol:ЭА 12:1 \rightarrow 8:1) из смеси выделяют продукт в виде смеси α и β -изомеров **36** (171 мг, 0.144 ммоль, 78%), соотношение α : β =5:1.

MS-ESI C₆₆H₆₉ClO₁₈ [M+Na]⁺; вычисл.: 1207.4065, найдено: 1207.4059.

α-изомер:

¹H 9MP (600 MΓu, CDCl₃): δ 1.06 (3H, d, $J_{5.6}$ =6.5 Γu, H-6 (Fuc')), 1.10 (3H, d, $J_{5.6}$ =6.5 Γu, H-6 (Fuc)), 3.55-3.60 (2H, m, H-2 (GlcA), C(O)CHH'Cl), 3.67-3.75 (3H, m, H-3 (GlcA), H-4 (GlcA), C(O)CHH'Cl), 3.81 (3H, s, OMe), 4.03-4.07 (1H, m, OCHH'CH), 4.10 (1H, dd, $J_{1.2}$ =3.5 Γu, $J_{2.3}$ =10.3 Γu, H-2 (Fuc)), 4.16-4.23 (2H, m, H-5 (Fuc), OCHH'CH), 4.25 (1H, d, J=10.9 Γu, CHH'Ph), 4.40 (1H, dd, $J_{1.2}$ =3.2 Γu, $J_{2.3}$ =10.4 Γu, H-2 (Fuc')), 4.44-4.50 (2H, m, H-3 (Fuc), CHH'Ph), 4.53-4.57 (2H, m, H-5 (Fuc'), H-5 (GlcA)), 4.58-4.60 (2H, m, CH₂Ph), 4.66 (1H, d, J=10.9 Γu, CHH'Ph), 4.73 (1H, d, J=11.6 Γu, CHH'Ph), 4.80 (1H, d, J=11.1 Γu, CHH'Ph), 4.86 (1H, d, J=11.4 Γu, CHH'Ph), 5.02 (1H, d, $J_{1.2}$ =3.4 Γu, H-1 (Fuc)), 5.22 (1H, d, J=10.4 Γu, CH₂CH=CHH'), 5.30 (1H, d, $J_{1.2}$ =3.2 Γu, H-1 (GlcA)), 5.34-5.40 (2H, m, H-4 (Fuc), OCH₂CH=CHH'), 5.52 (1H, d, $J_{1.2}$ =3.2 Γu, H-1 (Fuc')), 5.68 (1H, dd, $J_{2.3}$ =10.5 Γu, $J_{3.4}$ =3.3 Γu, H-3 (Fuc')), 5.72 (1H, d, $J_{3.4}$ =3 Γu, H-4 (Fuc)), 5.92-6.01 (1H, m, CH₂CH=CH₂), 7.15-7.51 (26H, 6xAr), 8.08 (2H, d, J=7.4 Γu, *p*-Bz), 8.15 (2H, d, J=7.4 Γu, *p*-Bz).

¹³C ЯМР (150.9 МГц, CDCl₃): δ 15.8 (C-6 (Fuc')), 16.2 (C-6 (Fuc)), 40.5 (C(O)*C*H₂Cl), 52.7 (OMe), 64.8 (C-5 (Fuc')), 65.4 (C-5 (Fuc)), 68.4 (OCH₂CH), 70.7 (C-5 (GlcA)), 71.2 (C-4 (Fuc)), 71.3 (C-2 (Fuc')), 71.7 (C-4 (Fuc')), 72.1 (C-3 (Fuc)), 72.8 (*C*H₂Ph), 72.9 (*C*H₂Ph), 73.0 (C-3 (Fuc')), 74.8 (C-2 (Fuc)), 75.0 (*C*H₂Ph), 75.1 (*C*H₂Ph), 79.3 (C-2 (GlcA)), 79.9 (C-4 (GlcA)), 80.6 (GlcA)), 95.9 (C-1 (Fuc')), 96.2 (C-1 (Fuc)), 98.2 (C-1 (GlcA)), 117.6 (CH₂CH=*C*H₂), 127-129 (6xAr), 129.8 (Bz), 130.5 (Bz), 132.9 (*p*-Bz), 133.4 (*p*-Bz), 133.9 (CH₂CH=CH₂), 137.9 (Bn), 138.1 (Bn), 138.2 (Bn), 138.6 (Bn), 166.0 (*C*(O)Ph), 166.1 (*C*(O)Ph), 166.4 (*C*(O)CH₂Cl), 170.3 (C-6 (GlcA)).

β-изомер:

¹H ЯМР (400 МΓц, CDCl₃): δ 1.06 (3H, d, J_{5-6} =6.5 Γц, H-6 (Fuc')), 1.11 (3H, d, J_{5-6} =6.5 Γц, H-6 (Fuc)), 3.01 (1H, dd, J_{1-2} =7.6 Γц, J_{2-3} =9.1 Γц, H-2 (GlcA)), 3.19 (1H, t,

J=9.1 Γ_μ, H-3 (GlcA)), 3.52 (1H, t, J=9.4 Γ_μ, H-4 (GlcA)), 3.67 (3H, s, OMe), 3.85 (1H, d, $J_{4.5}$ =9.8 Γ_μ, H-5 (GlcA)), 3.97 (2H, q, J=15.3 Γ_μ, C(O)CH₂Cl), 4.03 (1H, dd, $J_{1.2}$ =3.5 Γ_μ, $J_{2.3}$ =10.2 Γ_μ, H-2 (Fuc)), 4.07 (1H, ddt, J=6.2 Γ_μ, J=5.6 Γ_μ, J=1.3 Γ_μ, OCHH'CH), 4.13 (1H, q, J=6.7 Γ_μ, H-5 (Fuc)), 4.21 (1H, ddt, J=13.2 Γ_μ, J=5.1 Γ_μ, J=1.5 Γ_μ, OCHH'CH), 4.39 (1H, dd, $J_{1.2}$ =3.4 Γ_μ, $J_{2.3}$ =10.2 Γ_μ, H-2 (Fuc')), 4.41 (1H, dd, $J_{2.3}$ =10.0 Γ_μ, $J_{3.4}$ =3.3 Γ_μ, H-3 (Fuc)), 4.44-4.47 (3H, m, H-1 (GlcA), CH₂Ph), 4.48-4.53 (2H, m, H-5 (Fuc'), CHH'Ph), 4.55 (1H, d, J=7.9 Γ_μ, CHH'Ph), 4.65 (1H, d, J=11.5 Γ_μ, CHH'Ph), 4.67-4.71 (2H, m, 2xCHH'Ph), 4.77 (1H, d, J=11.5 Γ_μ, CH₂CH=CHH'), 5.33 (1H, dd, $J_{3.4}$ =3.4 Γ_μ, $J_{4.5}$ =1.1 Γ_μ, H-4 (Fuc')), 5.37 (1H, dd, J=17.2 Γ_μ, J=1.6 Γ_μ, CH₂CH=CHH'), 5.50 (1H, d, $J_{1.2}$ =3.5 Γ_μ, H-1 (Fuc')), 5.62 (1H, d, $J_{3.4}$ =3.0 Γ_μ, H-4 (Fuc)), 5.65 (1H, dd, $J_{2.3}$ =10.4 Γ_μ, $J_{3.4}$ =3.4 Γ_μ, P-Bz), 7.59 (1H, t, J=7.4 Γ_μ, *p*-Bz), 8.05 (2H, d, J=7.0 Γ_μ, *o*-Bz), 8.09 (2H, d, J=7.0 Γ_μ, *o*-Bz).

¹³C ЯМР (100.6 МГц, CDCl₃): δ 15.8 (C-6 (Fuc')), 16.3 (C-6 (Fuc)), 40.8 (C(O)*C*H₂Cl), 52.3 (OMe), 64.9 (C-5 (Fuc')), 65.3 (C-5 (Fuc)), 68.5 (O*C*H₂CH), 70.1 (C-4 (Fuc)), 70.2 (C-3 (Fuc)), 70.6 (C-2 (Fuc')), 71.2 (C-3 (Fuc')), 71.7 (C-4 (Fuc')), 73.3 (*C*H₂Ph), 73.7 (*C*H₂Ph), 74.0 (C-5 (GlcA)), 74.5 (C-2 (Fuc)), 74.8 (*C*H₂Ph), 75.3 (*C*H₂Ph), 78.8 (C-4 (GlcA)), 81.0 (C-2 (GlcA)), 83.6 (C-3 (GlcA)), 91.9 (C-1 (Fuc')), 96.3 (C-1 (Fuc)), 100.0 (C-1 (GlcA)), 117.6 (CH₂CH=*C*H₂), 127.2-130.4 (Ar), 133.2 (*p*-Bz), 133.3 (*p*-Bz), 133.9 (CH₂*C*H=CH₂), 137.9 (Bn), 138.1 (Bn), 138.6 (2xBn), 166.2 (*C*(O)CH₂Cl), 166.4 (*C*(O)Ph), 166.9 (*C*(O)Ph), 168.8 (C-6 (GlcA)).

Аллил-2-*О*-бензил-3-*О*-(2-*О*-[Метил (2,3,4-три-*О*-бензил-α-Dглюкопиранозил) уронат]-4-*О*-бензоил-α-L-фукопиранозил)-4-*О*-бензоил-α-Lфукопиранозид (37)



К раствору трисахарида **36** (150 мг, 0.114 ммоль) в метаноле (5 мл) добавляют навеску 5 экв тиомочевины (165 мг, 0.573 ммоль) и 1.5 экв коллидина (22.5 мкл,

0.171 ммоль). Реакция проходит при перемешивании и при t=60°C с использованием насадки-дефлегматора. Реакцию контролируют методом TCX (система Tol:ЭA 10:1, R_f =0.3). По окончании реакции (2 суток) реакционную смесь разбавляют этилацетатом (50 мл) и моют дистиллированной водой (2×50 мл). Органический слой отделяют, сушат над Na₂SO_{4(безв.)} и концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система Tol:ЭA 20:1→10:1) из смеси выделяют чистый α-продукт **37** (101 мг, 0.091 ммоль, 80%).

 $[\alpha]_D$ =-104° (c=1, EtOAc)

MS-ESI C₆₄H₆₈O₁₇ [M+Na]⁺; вычисл.: 1131.4349, найдено: 1131.4344.

¹H 9MP (600 MΓu, CDCl₃): δ 1.04 (3H, d, J_{5-6} =6.4 Γu, H-6 (Fuc')), 1.06 (3H, d, J_{5-6} =6.5 Γu, H-6 (Fuc)), 3.48 (1H, d, J=2.5 Γu, 3-OH), 3.51 (1H, dd, J_{1-2} =3.9 Γu, J_{2-3} =9.9 Γu, H-2 (GlcA)), 3.68 (1H, t, J=9.6 Γu, H-4 (GlcA)), 3.79 (3H, s, OMe), 3.91 (1H, t, J=9.4 Γu, H-3 (GlcA)), 3.98 (1H, dd, J_{1-2} =3.2 Γu, J_{2-3} =10.1 Γu, H-2 (Fuc')), 4.00-4.04 (2H, m, H-2 (Fuc), OCHH'CH), 4.15-4.20 (2H, m, H-5 (Fuc), OCHH'CH), 4.28 (1H, dt, J_t =2.9 Γu, J_{2-3} =10.1 Γu, H-3 (Fuc')), 4.38 (1H, q, J=6.4 Γu, H-5 (Fuc')), 4.42 (1H, dd, J_2 . 3=10.1 Γu, J_{3-4} =3.2 Γu, H-3 (Fuc)), 4.56 (1H, d, J=5.7 Γu, CHH'Ph), 4.57 (1H, d, J_4 . 5=6.9 Γu, H-5 (GlcA)), 4.62-4.79 (7H, m, 3xCH₂Ph, CHH'Ph), 4.97 (1H, d, J_{1-2} =3.7 Γu, H-1 (Fuc)), 5.07 (1H, d, J_{1-2} =3.7 Γu, H-1 (GlcA)), 5.19-5.22 (2H, m, H-4 (Fuc'), CH₂CH=CHH'), 5.33-5.37 (2H, m, H-1 (Fuc'), CH₂CH=CHH'), 5.69 (1H, d, J_{3-4} =3.2 Γu, H-4 (Fuc)), 5.90-5.98 (1H, m, CH₂CH=CH₂), 7.07-7.62 (26H, m, 6xAr), 8.10 (2H, d, J=7 Γu, Bz), 8.13 (2H, d, J=7 Γu, Bz).

¹³C ЯМР (150.9 МГц, CDCl₃): δ 16.0 (C-6 (Fuc')), 16.1 (C-6 (Fuc)), 52.6 (OMe), 65.4 (C-5 (Fuc)), 65.7 (C-5 (Fuc')), 68.4 (C-3 (Fuc')), 68.5 (OCH₂CH), 70.9 (C-5 (GlcA)), 72.1 (C-4 (Fuc)), 72.9 (CH₂Ph), 73.4 (C-3 (Fuc)), 73.9 (CH₂Ph), 74.1 (C-4 (Fuc')), 75.2 (CH₂Ph), 75.4 (CH₂Ph), 75.7 (C-2 (Fuc)), 78.5 (C-2 (GlcA)), 79.3 (C-2 (Fuc')), 80.1 (C-4 (GlcA)), 81.3 (C-3 (GlcA)), 96.3 (C-1 (Fuc)), 97.5 (C-1 (Fuc')), 100.8 (C-1 (GlcA)), 117.4 (CH₂CH=CH₂), 127.5-128.5 (6xAr), 129.9 (Bz), 130.2 (Bz), 132.9 (Bz), 133.1 (Bz), 134.0 (CH₂CH=CH₂), 137.1 (Bn), 138.2 (Bn), 138.3 (Bn), 138.7 (Bn), 165.8 (Bz), 166.6 (Bz), 170.3 (C-6 (GlcA)).

Аллил-2-О-бензил-3,4-ди-О-хлорацетил-а,β-L-фукопиранозид (38)

К раствору аллилфукозида 24 (1.16 г, 5.68 ммоль) в ДМФА (20 мл) добавляют навеску камфорсульфоновой кислоты. (CSA) (220 мг, 0.94 ммоль), а затем 1.5 экв PhCH(OMe)₂ (1.3 мл, 8.5 ммоль). Реакция проходит при перемешивании при t=40°C до полного исчезновения исходного вещества. Реакцию контролируют методом TCX (система ЭА:MeOH 2:1, $R_f=0.85$). По окончании реакции (1 час) температуру понижают до 0°C с помощью ледяной бани, после чего в реакционную смесь добавляют навеску 2 экв NaH (60%) (0.45 г, 18.9 ммоль). Реакцию выдерживают 30 минут с хлоркальциевой трубкой до окончания газовыделения, после чего добавляют 2 экв. бензил бромида (1.35 мл, 11.4 ммоль). Реакция проходит при перемешивании при комнатной температуре до полного исчезновения промежуточного продукта. Реакцию контролируют методом ТСХ (система ПЭ:ЭА 3:1, R_f=0.7). По окончании реакции (30 минут) реакционную смесь вновь охлаждают ледяной баней до 0°С и добавляют избыток 90% TFA_(ад.) (20 мл) до pH=2-3. Реакция проходит при комнатной температуре и перемешивании, контроль осуществляется методом TCX (система ПЭ:ЭА 3:1, R_f=0.15). По окончании реакции (20 минут) реакционную смесь разбавляют этилацетатом (250 мл), моют насыщенным раствором NaHCO_{3(аq)} (250 мл) и дистиллированной водой (2×250 мл). Органический слой отделяют, сушат над Na₂SO_{4(безв.)}, и концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система ПЭ:ЭА 4:1→1:1) из смеси выделяют промежуточный продукт. Затем к раствору промежуточного продукта в CH₂Cl₂ (15 мл) добавляют 6 экв. пиридина (2.75 мл, 34.0 ммоль), после чего температуру понижают до 0°С с помощью ледяной бани и добавляют 3 экв хлорацетилхлорида (1.35 мл, 17 ммоль). Реакция проходит при перемешивании при комнатной температуре. Контроль осуществляется методом ТСХ (система ПЭ:ЭА 3:1, R_f=0.6). По окончании реакции (10 минут) реакционную смесь разбавляют этилацетатом (100 мл), моют дистиллированной водой (2×150 мл). Органический слой отделяют, сушат над Na₂SO_{4(безв.)}, и концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система ПЭ:ЭА 20:1→10:1) из смеси выделяют чистый продукт 38 (1.83 г, 4.09 ммоль, 72%).

¹H ЯМР (600 МΓц, CDCl₃): δ 1.15 (3H, d, J_{5-6} =6.6 Γц, H-6), 3.88 (1H, dd, J_{1-2} =3.6 Γц, J_{2-3} =10.5 Γц, H-2), 3.96 (2H, d, J=2.0 Γц, CH_2 Cl), 4.04 (1H, dd, J=6.3 Γц, J=13.0 Γц, OCHH'CH), 4.10-4.15 (2H, m, CH₂Cl), 4.16-4.23 (2H, m, H-5, OCHH'CH), 4.66 (2H, dd, J=12.3 Γц, J=29.4 Γц, CH_2 Ph), 4.90 (1H, d, J_{1-2} =3.6 Γц, H-1), 5.25 (1H, dd, J=1.2 Γц, J=10.3 Γц, CH₂CH=CHH'), 5.33-5.38 (2H, m, H-4, CH₂CH=CHH'), 5.44 (1H, dd, J_{2-3} =10.5 Γц, J_{3-4} =3.3 Γц, H-3), 5.89-5.97 (1H, m, CH₂CH=CH₂), 5.28-5.37 (5H, m, Bn).

¹³C ЯМР (150.9 МГц, CDCl₃): δ 15.7 (C-6), 40.4 (*C*H₂Cl), 64.0 (C-5), 68.7 (OCH₂CH), 71.7 (C-3), 72.9 (C-2), 73.0 (*C*H₂Ph), 73.3 (C-4), 96.2 (C-1), 118.0 (CH₂CH=CH₂), 127.8 (*o*-Bn), 128.4 (*m*-Bn), 133.4 (CH₂CH=CH₂), 137.8 (*p*-Bn), 166.2 (*C*(O)CH₂Cl), 167.2 (*C*(O)CH₂Cl).

Трихлорацетоимидат-2-*О*-бензил-3,4-ди-*О*-хлорацетил-α,β-Lфукопиранозид (17) [295]



К раствору моносахарида 38 (1.83 г, 4.09 ммоль) в метаноле (10 мл) добавляют 0.4 экв. дихлорида палладия (290 мг, 1.64 ммоль) и перемешивают до полного исчезновения исходного соединения. Реакцию контролируют методом ТСХ (система ПЭ:ЭА 3:1, R_f=0.55). По окончании реакции (1 час) реакционную смесь отфильтровывают через слой целита от Pd⁰, фильтр промывают метанолом.. К фильтрату добавляют Et₃N (0.5 мл) и концентрируют его в вакууме. Колоночной хроматографией (система ПЭ:ЭА 8:1→6:1) из смеси выделяют полуацеталь в виде смеси α и β-изомеров. К раствору полученных полуацеталей в абсолютном CH₂Cl₂ (10 мл) добавляют навеску 3 экв. карбоната цезия (4.0 г, 12.3 ммоль) и 2 экв. трихлорацетонитрила (1.23 мл, 12.3 ммоль). Реакционную смесь интенсивно перемешивают при комнатной температуре ДО полного исчезновения полуацеталей. Реакцию контролируют методом TCX (система Tol:ЭА 3:1, пластинки пассивированы Et₃N, $R_f=0.6$ (α), $R_f=0.7$ (β)). По окончании реакции (30) минут) реакционную смесь отфильтровывают через слой целита от карбоната цезия, фильтр промывают ЭА. Фильтрат концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система Tol:ЭА 8:1→3:1, колонка обработана 0,01 М раствора

Еt₃N в толуоле) из смеси выделяют трихлорацетимидат **17** в виде смеси α и β -изомеров (1.53 г, 2.78 ммоль, 68%), соотношение α : β ~1:1.

Аллил-2-*О*-бензил-3-*О*-(2-*O*-[Метил (2,3,4-три-*О*-бензил-α-Dглюкопиранозил) уронат]-3-*О*-(2-*О*-бензил-3,4-ди-*О*-хлорацетил-α-Lфукопиранозил)-4-*О*-бензоил-α-L-фукопиранозил)-4-*О*-бензоил-α-Lфукопиранозид (39)



К раствору акцептора **37** (122 мг, 0.11 ммоль) и донора **17** (93 мг, 0.17 ммоль, 1.5 экв.) в абсолютном CH_2Cl_2 (5 мл) в атмосфере аргона прибавляют молекулярные сита MS-4Å (300 мг) (прокаленные при 200°С на вакууме в течение 2 часов), и перемешивают в течение 30 минут. Затем к реакционной смеси, охлажденной до -50°С с помощью ацетоновой бани, микрошприцом добавляют 0.3 экв. TMSOTf (5 мкл, 0.009 ммоль). Реакционную смесь выдерживают при постоянном перемешивании в интервале температур от -40°С до -20°С. Реакцию контролируют методом TCX (система Tol:ЭА 10:1, R_f =0.6). По окончании реакции (1 час) в реакционную смесь добавляют Et_3N (0.3 мл), после чего реакционную смесь фильтруют на стеклянном фильтре через слой силикагеля, фильтр промывают ЭА. Фильтрат концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система Tol:ЭА 20:1→10:1) из смеси выделяют чистый α-продукт **39** (150 мг, 0.1 ммоль, 91%).

 $[\alpha]_{D}$ =-119.42° (c=1, EtOAc).

MS-ESI C₈₁H₈₆Cl₂O₂₃ [M+Na]⁺; вычисл.: 1519.4829, найдено: 1519.4859.

¹H ЯМР (600 МГц, CDCl₃): δ 0.84 (3H, d, J_{5-6} =6.5 Гц, H-6 (Fuc'')), 0.99 (3H, d, J_{5-6} =6.5 Γц, H-6 (Fuc')), 1.10 (3H, d, J_{5-6} =6.5 Γц, H-6 (Fuc)), 3.65-3.70 (4H, m, H-2 (GlcA), H-2 (Fuc''), C(O)CH₂Cl), 3.73 (3H, s, OMe), 3.77 (1H, t, J=9.2 Γц, H-4 (GlcA)), 3.85 (1H, t, J=9.1 Γц, H-3 (GlcA)), 3.90-4.00 (4H, m, H-2 (Fuc), OCHH'CH, C(O)CH₂Cl), 4.06-4.14 (3H, m, H-5 (Fuc'), OCHH'CH, CHH'Ph), 4.18 (1H, q, J=6.6

Γu, H-5 (Fuc)), 4.25-4.30 (2H, m, H-2 (Fuc'), CH*H*'Ph), 4.34 (1H, q, *J*=6.5 Γu, H-5 (Fuc'')), 4.39-4.44 (3H, m, H-3 (Fuc), H-3 (Fuc'), H-5 (GlcA)), 4.57-4.69 (4H, m, C*H*₂Ph, 2xC*H*H'Ph), 4.74-4.80 (3H, m, C*H*H'Ph, 2xCH*H*'Ph), 4.86 (1H, d, *J*₁₋₂=3.6 Γu, H-1 (Fuc)), 4.96 (1H, d, *J*₃₋₄=3.3 Γu, H-4 (Fuc'')), 5.05 (1H, d, *J*=12.5 Γu, CH*H*'Ph), 5.12 (1H, dd, *J*=1.2 Γu, *J*=10.4 Γu, CH₂CH=C*H*H'), 5.24 (1H, d, *J*₁₋₂=3.7 Γu, H-1 (Fuc'')), 5.26-5.30 (2H, m, H-1 (GlcA), CH₂CH=CH*H*'), 5.32 (1H, dd, *J*₂₋₃=10.4 Γu, *J*₃₋₄=3.3 Γu, H-3 (Fuc'')), 5.36 (1H, d, *J*₃₋₄=3.1 Γu, H-4 (Fuc')), 5.50 (1H, d, *J*₁₋₂=3.3 Γu, H-1 (Fuc')), 5.76 (1H, d, *J*₃₋₄=3.1 Γu, H-4 (Fuc)), 5.83-5.90 (1H, m, CH₂C*H*=CH₂), 6.95-7.40 (29H, m, 5xBn, 2xBz), 7.49 (1H, t, *J*=7.4 Γu, *p*-Bz), 7.54 (1H, t, *J*=7.4 Γu, *p*-Bz), 8.00 (2H, d, *J*=7.2 Γu, *o*-Bz), 8.10 (2H, d, *J*=7.2 Γu, *o*-Bz).

¹³C ЯМР (150.9 МГц, CDCl₃): δ 15.5 (C-6 (Fuc'')), 16.2 (C-6 (Fuc)), 16.3 (C-6 (Fuc')), 40.6 (C(O)*C*H₂Cl), 40.6 (C(O)*C*H₂Cl), 52.7 (OMe), 64.5 (C-5 (Fuc'')), 65.4 (C-5 (Fuc')), 65.6 (C-5 (Fuc')), 68.8 (OCH₂CH), 69.7 (C-4 (Fuc')), 70.7 (C-3 (Fuc')), 71.3 (C-5 (GlcA)), 72.0 (C-3 (Fuc'')), 72.2 (*C*H₂Ph), 72.4 (C-2 (Fuc'')), 72.8 (C-4 (Fuc)), 73.0 (*C*H₂Ph), 73.6 (C-4 (Fuc'')), 73.9 (C-3 (Fuc)), 74.0 (*C*H₂Ph), 74.5 (C-2 (Fuc')), 75.0 (*C*H₂Ph), 75.3 (*C*H₂Ph), 75.6 (C-2 (Fuc)), 79.2 (C-2 (GlcA)), 80.0 (C-4 (GlcA)), 81.8 (C-3 (GlcA)), 92.4 (C-1 (Fuc'')), 96.5 (C-1 (Fuc)), 97.1 (C-1 (Fuc')), 99.3 (C-1 (GlcA)), 117.7 (CH₂CH=*C*H₂), 127.4-129.8 (5xBn, 2xBz), 130.1 (*o*-Bz), 130.2 (*o*-Bz), 133.2 (*p*-Bz), 133.3 (*p*-Bz), 134.2 (CH₂CH=CH₂), 138.0 (Bn), 138.4 (Bn), 138.6 (Bn), 138.6 (Bn), 138.9 (Bn), 166.0 (*C*(O)Ph), 166.1 (*C*(O)Ph), 166.6 (*C*(O)CH₂Cl), 167.2 (*C*(O)CH₂Cl), 170.2 (C-6 (GlcA)).

Пропил-3-*O*-(2-*O*-(Натрия α-D-глюкопиранозилуронат)-3-*O*-(α-Lфукопиранозил)-α-L-фукопиранозил)-α-L-фукопиранозид (5)



К раствору тетрасахарида **39** (25 мг, 0.0177 ммоль) в метаноле (1 мл) и ЭА (1 мл) добавляют палладий на угле (20 мг), после чего колбу заполняют водородом. Реакционную смесь интенсивно перемешивают при комнатной температуре.

Реакцию контролируют методом TCX (система ЭА). По окончании реакции (1 час) реакционную смесь фильтруют на стеклянном фильтре через слой силикагеля, затем концентрируют в вакууме. К раствору полученного продукта (10 мг, 0.096 ммоль) в метаноле (1 мл) прибавляют $2N_{(aq.)}$ NaOH (0.2 мл). Реакционную смесь выдерживают при комнатной температуре и перемешивании. По окончании реакции (20 часов) реакционную смесь концентрируют в вакууме, после чего растворяют в дистиллированной воде (1 мл), фильтруют через нейлоновый фильтр и наносят на гелевую колонку. Эксклюзионной хроматографией из смеси выделяют чистый продукт **5** (11.3 мг, 0.0162 ммоль, 91%).

 $[\alpha]_D = -140^\circ (c=1, H_2O)$

MS-ESI C₂₇H₄₅NaO₁₉ [M+Na]⁺; вычисл.: 719.2345, найдено: 719.2335.

¹H ЯМР (600 МГц, D₂O): δ 0.93 (3H, t, *J*=7.3 Γц, CH₂CH₂CH₃), 1.21 (3H, d, *J*₅₋₆=6.6 Γц, H-6 (Fuc'')), 1.24 (6H, d, *J*₅₋₆=6.4 Γц, H-6 (Fuc), H-6 (Fuc')), 1.61-1.68 (2H, m, CH₂CH₂CH₃), 3.49-3.54 (2H, m, H-4 (GlcA), OCHH'CH₂), 3.59 (1H, dd, *J*₁₋₂=4 Γц, *J*₂₋₃=9.9 Γц, H-2 (GlcA)), 3.68 (1H, q, *J*=7.2 Γц, OCHH'CH₂), 3.73 (1H, t, *J*=9.5 Γц, H-3 (GlcA)), 3.80-3.84 (2H, m, H-2 (Fuc''), H-4 (Fuc'')), 3.92 (1H, dd, *J*₂₋₃=10.5 Γц, *J*₃₋₄=3.5 Γц, H-3 (Fuc'')), 3.94-4.00 (3H, m, H-5 (GlcA), H-2 (Fuc), H-3 (Fuc)), 4.05-4.10 (2H, m, H-4 (Fuc), H-5 (Fuc))), 4.12 (1H, d, *J*₃₋₄=2.9 Γц, H-4 (Fuc')), 4.19 (1H, dd, *J*₁₋₂=4 Γц, *J*₂₋₃=10.4 Γц, H-2 (Fuc')), 4.26-4.32 (2H, m, H-3 (Fuc')), H-5 (Fuc')), 4.41 (1H, q, *J*=6.6 Γц, H-5 (Fuc'')), 4.93 (1H, d, *J*₁₋₂=3.5 Γц, H-1 (Fuc)), 5.15 (1H, d, *J*₁₋₂=4 Γц, H-1 (Fuc')), 5.17 (1H, d, *J*₁₋₂=4 Γц, H-1 (Fuc'')), 5.29 (1H, d, *J*₁₋₂=4 Γц, H-1 (GlcA)).

¹³C ЯМР (150.9 МГц, D₂O): δ 11.1 (CH₂CH₂CH₃), 16.5 (C-6 (Fuc), C-6 (Fuc'), C-6 (Fuc')), 23.3 (CH₂CH₂CH₃), 67.5 (C-2 (Fuc)), 67.6 (C-5 (Fuc')), 67.8 (C-5 (Fuc)), 68.3 (C-4 (Fuc')), 68.4 (C-5 (Fuc'')), 69.0 (C-4 (Fuc)), 69.1 (C-2 (Fuc'')), 70.9 (C-3 (Fuc'')), 71.3 (CH₂CH₂CH₃), 71.6 (C-2 (Fuc')), 72.3 (C-2 (GlcA)), 73.1 (C-4 (GlcA)), 73.1 (C-4 (Fuc'')), 74.0 (C-5 (GlcA)), 74.1 (C-3 (Fuc'), C-3 (GlcA)), 75.0 (C-3 (Fuc)), 94.5 (C-1 (Fuc'')), 95.3 (C-1 (Fuc')), 99.5 (C-1 (Fuc)), 100.6 (C-1 (GlcA)).

Натриевая соль пропил-3-*O*-(2-*O*-(натрия α-D-глюкопиранозилуронат)-3-*O*-(3,4-ди-*O*-сульфо-α-L-фукопиранозил)-4-*O*-сульфо-α-L-фукопиранозил)-4-*O*сульфо-α-L-фукопиранозид (7)



К раствору тетрасахарида 39 (32 мг, 0.021 ммоль) в THF (2 мл) и MeOH (0.6 мл) добавляют 2N_(ас.) NaOH (0.4 мл). Реакция проходит при t=65°C. Реакцию контролируют методом ТСХ (системы ПЭ:ЭА 1:1, DCM:MeOH 10:1). По окончании реакции (10 часов) в реакционную смесь добавляют ионообменную смолу IR-120 в H^+ форме до pH~7, после чего фильтруют на стеклянном фильтре, затем фильтрат концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система DCM:MeOH 25:1→10:1) из смеси выделяют промежуточный тетраол, который затем растворяют в ДМФА (2 мл) и добавляют к раствору навеску Ру·SO₃ (140 мг, 0.88 ммоль). Реакционную смесь выдерживают в течение 3 часов при температуре 40°С. По окончании реакции в реакционную смесь добавляют 1M_(ад.) NaHCO₃ до pH=8-9, после чего раствор концентрируют в вакууме. Промежуточный продукт экстрагируют MeOH И колоночной хроматографией очищают (система DCM:MeOH 10:1 \rightarrow 1:1), после чего растворяют в системе THF (2 мл), EtOAc (0.5 мл), EtOH (0.4 мл) и добавляют якорь магнитной мешалки и навеску палладия на угле (50 мг), после чего колбу заполняют водородом. Реакционную смесь интенсивно перемешивают при комнатной температуре. Реакцию контролируют методом ТСХ (система DCM:MeOH 1:1). По окончании реакции (12 часов) реакционную смесь фильтруют через нейлоновый фильтр, концентрируют в вакууме, а затем растворяют в воде и наносят на гелевую колонку. Эксклюзионной хроматографией из смеси выделяют чистый продукт 7 (19.5 мг, 0.017 ммоль, 81%).

 $[\alpha]_{D}$ =-103.00° (c=1, H₂O).

MS-ESI C₂₇H₄₁O₃₁ S₄Na₅ [M+H]⁺; вычисл.: 1105.0076, найдено: 1105.0060.

¹Н ЯМР (600 МГц, D₂O): δ 0.92 (3H, t, *J*=7.4 Гц, CH₂CH₂CH₃), 1.29-1.31 (6H, m, H-6 (Fuc), H-6 (Fuc')), 1.32 (3H, d, *J*₅₋₆=6.5 Гц, H-6 (Fuc'')), 1.60-1.67 (2H, m, CH₂CH₂CH₃), 3.47 (1H, t, *J*=9.7 Гц, H-4 (GlcA)), 3.48-3.53 (1H, m, OCHH'CH₂), 3.60-3.65 (2H, m, H-2 (GlcA), OCHH'CH₂), 3.87 (1H, t, *J*=9.5 Гц, H-3 (GlcA)), 3.96 (1H, dd, J_{1-2} =3.9 Γц, J_{2-3} =10.2 Γц, H-2 (Fuc)), 3.99-4.05 (3H, m, H-2 (Fuc''), H-3 (Fuc), H-5 (GlcA)), 4.20 (1H, q, J=6.7 Γц, H-5 (Fuc)), 4.24 (1H, dd, J_{1-2} =3.6 Γц, J_{2-3} =10.4 Γц, H-2 (Fuc')), 4.45 (1H, q, J=6.6 Γц, H-5 (Fuc')), 4.50-4.55 (2H, m, H-3 (Fuc'), H-5 (Fuc'')), 4.73 (1H, dd, J_{2-3} =10.5 Γц, J_{3-4} =3.0 Γц, H-3 (Fuc'')), 4.79 (1H, d, J_{3-4} =2.8 Γц, H-4 (Fuc')), 4.86 (1H, d, J_{3-4} =3.0 Γц, H-4 (Fuc'')), 4.90 (1H, d, J_{3-4} =2.8 Γц, H-4 (Fuc')), 4.92 (1H, d, J_{1-2} =3.9 Γц, H-1 (Fuc)), 5.30 (1H, d, J_{1-2} =3.6 Γц, H-1 (Fuc')), 5.37 (1H, d, J_{1-2} =4.1 Γц, H-1 (GlcA)), 5.44 (1H, d, J_{1-2} =3.9 Γц, H-1 (Fuc'')).

¹³C ЯМР (150.9 МГц, D₂O): δ 11.2 (CH₂CH₂CH₃), 17.1-17.3 (C-6 (Fuc), C-6 (Fuc'), C-6 (Fuc')), 23.3 (CH₂CH₂CH₃), 67.4 (C-2 (Fuc')), 67.4 (C-5 (Fuc)), 67.9 (C-5 (Fuc')), 67.9 (C-5 (Fuc')), 68.6 (C-2 (Fuc)), 71.4 (OCH₂CH₂), 71.9 (C-3 (Fuc')), 72.5 (C-2 (Fuc')), 72.6 (C-2 (GlcA)), 73.3 (C-4 (GlcA)), 73.8 (C-5 (GlcA)), 74.2 (C-3 (GlcA)), 76.8 (C-3 (Fuc'')), 77.1 (C-3 (Fuc)), 77.8 (C-4 (Fuc')), 80.2 (C-4 (Fuc)), 80.6 (C-4 (Fuc'')), 94.4 (C-1 (Fuc'')), 98.5 (C-1 (Fuc')), 99.3 (C-1 (Fuc)), 100.4 (C-1 (GlcA)), 177.6 (C-6 (GlcA)).

Натриевая соль пропил-2,4-ди-*O*-сульфо-3-*O*-(2-*O*-[натрия (2,3,4-три-*O*сульфо-α-D-глюкопиранозил) уронат]-3-*O*-(2,3,4-три-*O*-сульфо-α-Lфукопиранозил)-4-*O*-сульфо-α-L-фукопиранозил)-α-L-фукопиранозид (6)



К раствору тетрасахарида 7 (5.7 мг, 0.005 ммоль) в ДМФА (2 мл) в атмосфере аргона при 0°С добавляют навеску Ру·SO₃ (240 мг, 1.5 ммоль). Реакционную смесь выдерживают в течение 48 часов при температуре 2-6°С. По окончании реакции в реакционную смесь добавляют $1M_{(aq.)}$ NaHCO₃ до pH=8-9, после чего несколько раз соупаривают с дистиллированной водой. Эксклюзионной хроматографией выделяют чистый продукт **6** (6.5 мг, 0.004 ммоль, 80%).

 $[\alpha]_D = -48.6^{\circ} (c=1, H_2O).$

MS-ESI C₂₇H₃₆O₄₆ S₉Na₈ [M-2Na]²⁻; вычисл.: 783.8578, найдено: 783.8707.

¹H ЯМР (600 МΓц, D₂O): δ 0.90 (3H, t, J=7.4 Γц, CH₂CH₂CH₃), 1.26 (3H, d, $J_{5-6}=6.6$ Γц, H-6 (Fuc')), 1.28-1.31 (6H, m, H-6 (Fuc), H-6 (Fuc')), 1.61-1.69 (2H, m, CH₂CH₂CH₃), 3.50-3.55 (1H, m, OCHH'CH₂), 3.68-3.74 (1H, m, OCHH'CH₂), 4.07 (1H, dd, $J_{1-2}=3.4$ Гц, $J_{2-3}=9.7$ Гц, H-2 (Fuc')), 4.33 (1H, q, J=6.5 Гц, H-5 (Fuc)), 4.37-4.41 (2H, m, H-3 (Fuc'), H-5 (Fuc')), 4.45 (1H, d, $J_{1-2}=3.6$ Гц, $J_{2-3}=10.4$ Гц, H-2 (Fuc')), 4.45 (1H, d, $J_{1-2}=3.6$ Гц, $J_{2-3}=10.4$ Гц, H-2 (Fuc')), 4.45 (1H, d, $J_{1-2}=3.6$ Гц, $J_{2-3}=10.4$ Гц, H-2 (Fuc')), 4.49-4.55 (2H, m, H-2 (Fuc), H-5 (Fuc')), 4.63 (1H, br s, H-2 (GlcA)), 4.76 (1H, dd, $J_{2-3}=10.1$ Гц, $J_{3-4}=2.4$ Гц, H-3 (Fuc)), 4.79-4.82 (2H, m, H-4 (Fuc')), H-5 (GlcA)), 4.92 (1H, d, $J_{3-4}=3.4$ Гц, H-4 (Fuc'')), 5.02-5.05 (2H, m, H-3 (Fuc''), H-4 (Fuc)), 5.07 (1H, br s, H-4 (GlcA)), 5.14 (1H, m, H-3 (GlcA)), 5.21 (1H, d, $J_{1-2}=3.5$ Гц, H-1 (Fuc)), 5.42-5.45 (2H, m, H-1 (Fuc'), H-1 (GlcA)), 5.50 (1H, d, $J_{1-2}=3.6$ Гц, H-1 (Fuc'')).

¹³C ЯМР (150.9 МГц, D₂O): δ 11.0 (CH₂CH₂CH₃), 17.0 (C-6 (Fuc)), 17.3 (C-6 (Fuc')), 17.7 (C-6 (Fuc'')), 22.9 (CH₂CH₂CH₃), 67.6 (C-5 (Fuc'')), 68.3 (C-5 (Fuc')), 68.5 (C-5 (Fuc)), 71.1 (OCH₂CH₂), 71.7 (C-2 (GlcA)), 73.3 (C-4 (GlcA)), 73.9 (C-3 (GlcA), C-3 (Fuc'')), 74.2 (C-3 (Fuc)), 74.7 (C-2 (Fuc'')), 76.0 (C-3 (Fuc')), 76.9 (C-2 (Fuc)), 77.4 (C-5 (GlcA)), 81.4 (C-2 (Fuc'), C-4 (Fuc'')), 81.6 (C-4 (Fuc')), 82.4 (C-4 (Fuc)), 96.6 (C-1 (Fuc')), 96.9 (C-1 (Fuc)), 98.2 (C-1 (Fuc'')), 100.8 (C-1 (GlcA)).

5.3.4. Получение фукофуранозных синтетических блоков

Аллил-3-О-(*трет*бутил-ди-метил)-силил-α-L-фукопиранозид (43)



К раствору аллилфукозида **24** (200 мг, 0.98 ммоль) в ДМФА (3 мл) добавляют навеску 1.2 экв TBDPSCl (330 мг, 1.2 ммоль) и 1.2 экв. имидазола (81.6 мг, 1.2 ммоль). Реакция проходит при перемешивании при комнатной температуре до полного исчезновения исходного фукозида. Реакцию контролируют методом TCX (система Tol:ЭА 2:1, R_f =0.6). По окончании реакции (1 сутки) реакционную смесь разбавляют этилацетатом (50 мл) и моют дистиллированной водой (2×50 мл). Органический слой отделяют, сушат над Na₂SO_{4(безв.)} и концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система ПЭ:ЭА 5:1→3:1) из смеси выделяют чистый продукт **43** (265 мг, 0.6 ммоль, 61%).

 $[\alpha]_{D}$ =-85.7° (c=1, EtOAc).

MS-ESI C₂₅H₃₄O₅Si [M+Na]⁺; вычисл.: 465.2068, найдено: 465.2063.

¹H ЯМР (600 МΓц, CDCl₃): δ 1.13 (3H, s, C(CH₃)₃), 1.23 (3H, d, J_{5-6} =6.7 Гц, H-6), 2.20 (1H, br s, 4-OH), 2.33 (1H, br s, 2-OH), 3.75 (1H, dd, J=5.7 Γц, J=12.8 Γц, OCHH'CH₂), 3.79 (1H, d, J_{3-4} =2.7 Гц, H-4), 3.98 (1H, q, J=6.6 Γц, H-5), 4.02 (1H, dd, J_{1-2} =3.7 Гц, J_{2-3} =9.6 Гц, H-2), 4.04-4.10 (2H, m, H-3, OCHH'CH₂), 4.45 (1H, d, J_{1-2} =3.6 Гц, H-1), 5.20 (1H, d, J=10.4 Гц, CH₂CH=CHH'), 5.34 (1H, dd, J=1.6 Гц, J=17.2 Гц, CH₂CH=CHH'), 5.89-5.96 (1H, m, CH₂CH=CH₂), 7.38-7.48 (6H, 2xm-Ph, 2xp-Ph), 7.73 (2H, d, J=6.7 Гц, *o*-Ph), 7.75 (2H, d, J=6.8 Гц, *o*-Ph).

¹³C ЯМР (150.9 МГц, CDCl₃): δ 16.0 (C-6), 19.4 (C(CH₃)₃), 27.0 (C(CH₃)₃), 65.4 (C-5), 68.6 (OCH₂CH), 71.0 (C-3), 71.3 (C-2), 71.9 (C-4), 98.1 (C-1), 116.8 (CH₂CH=CH₂), 127.7 (*m*-Ph), 127.9 (*m*-Ph), 129.9 (*p*-Ph), 130.0 (*p*-Ph), 134.2 (CH₂CH=CH₂), 135.8 (*o*-Ph), 135.9 (*o*-Ph).

Аллил-3-О-бензоил-а-L-фукопиранозид (44) [296]



К раствору аллилфукозида 24 (50 мг, 0.245 ммоль) в Tol (10 мл) добавляют навеску 1.2 экв дибутилоловооксида (74 мг, 0.3 ммоль), после чего в течение часа медленно отгоняют 70% Tol при t=110°C. Затем раствор охлаждают до комнатной температуры и добавляют 1.2 экв. бензоил хлорида (35 мкл, 0.3 ммоль). Реакция проходит при перемешивании при комнатной температуре до полного исчезновения исходного фукозида. Реакцию контролируют методом ТСХ (система ЭА, R_f=0.75). По окончании реакции (10 минут) в реакционную смесь добавляют (20 избыток метанола мл) И концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система ПЭ:ЭА 4:1→1:1) из смеси выделяют чистый продукт 44 (40 мг, 0.13 ммоль, 53%).

2,3,4-три-О-ацетил-а-L-фукопиранозилбромид (49)

К раствору фукозы **48** (4.1 г, 25 ммоль) в пиридине (40 мл) при охлаждении с помощью ледяной бани постепенно добавляют 12.7 экв уксусного ангидрида (30

мл, 318 ммоль). Реакция проходит при перемешивании и охлаждении на первом этапе, затем при комнатной температуре. Реакцию контролируют методом TCX (система Tol:ЭA 3:1, R_f =0.5). По окончании реакции (6 часов) температуру понижают до 0°C с помощью ледяной бани и добавляют избыток метанола (50 мл). Реакцию перемешивают в течение ещё 30 минут, после чего соупаривают с избытком Tol (100 мл). Полученный остаток (8 г, 24 ммоль) растворяют в дихлорметане (20 мл). Затем при охлаждении с помощью ледяной бани постепенно добавляют 1.3 экв уксусного ангидрида (3 мл, 31.8 ммоль) и 33% раствор HBr в уксусной кислоте (10 мл). Реакция проходит при перемешивании и охлаждении ледяной баней. Контроль осуществляется методом TCX (система Tol:ЭA 5:1, R_f =0.63). По окончании реакции (1 час) реакционную смесь разбавляют этилацетатом (250 мл), моют насыщенным раствором NaHCO_{3(аq)} (3×250 мл) и дистиллированной водой (2×250 мл). Органический слой отделяют, сушат над Na₂SO_{4(безв.)}, и концентрируют в вакууме. Поскольку продукт **49** разлагается на колонке, его без очистки вводят в следующую реакцию.

1,2,3,4-тетра-О-бензоил-α,β-L-фукопиранозид (50) [297]

К раствору фукозы **48** (2 г, 12.2 ммоль) в пиридине (20 мл) при охлаждении с помощью ледяной бани постепенно добавляют 4.3 экв бензоил хлорида (6 мл, 51.6 ммоль). Реакция проходит при перемешивании и охлаждении на первом этапе, затем при комнатной температуре. Реакцию контролируют методом TCX (система ПЭ:ЭА 2:1, R_f =0.3). По окончании реакции (1 час) реакционную смесь разбавляют этилацетатом (250 мл) и моют дистиллированной водой (2×250 мл). Органический слой отделяют, сушат над Na₂SO_{4(безв.)}, и концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система ПЭ:ЭА 15:1→6:1) из смеси выделяют чистый продукт **50** (5.32 г, 9.16 ммоль, 75%).

Трихлорацетоимидат-2,3,4-три-О-бензоил-α-L-фукопиранозид (51) [298]



К раствору фукозида 50 (5.32 г, 9.16 ммоль) в ацетоне (30 мл) добавляют 7 экв морфолина (5.6 мл, 64 ммоль). Реакция проходит при перемешивании и при t=40°С. Реакцию контролируют методом TCX (система Tol:ЭА 3:1, $R_f=0.66$). По окончании реакции (2 суток) реакционную смесь концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система ПЭ:ЭА 6:1→2:1) из смеси выделяют полуацеталь в виде смеси α и β-изомеров. К раствору полуацеталей (4.15 г, 8.7 ммоль) в абсолютном CH₂Cl₂ (3 мл) добавляют навеску 3 экв. карбоната цезия (3.6 г, 26.1 ммоль) и 5 экв. трихлорацетонитрила (4.4 мл, 43.5 ммоль). Реакционную смесь интенсивно перемешивают при комнатной температуре до полного исчезновения полуацеталей. Реакцию контролируют методом TCX (система Tol:ЭА 3:1, пластинки пассивированы Et₃N, R_f=0.8). По окончании реакции (1 час) реакционную смесь отфильтровывают через слой целита от карбоната цезия, фильтр промывают ЭА. Фильтрат концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система ПЭ:ЭА 10:1→6:1, колонка обработана 0,01 М раствора Et₃N в толуоле) из смеси выделяют трихлорацетимидат **51** (2.52 г, 4.05 ммоль, 44%) в виде чистого α-изомера.

Аллил-β-L-фукопиранозид (47)

А) К раствору моносахарида **49** (4.78 г, 12.96 ммоль) и аллилового спирта (1.15 мл, 16.8 ммоль, 1.3 экв.) в абсолютном CH_2Cl_2 (10 мл) в атмосфере аргона прибавляют молекулярные сита MS-4Å (800 мг) (прокаленные при 200°С на вакууме в течение 2 часов), и перемешивают в течение 30 минут. Затем к реакционной смеси, охлажденной до -40°С с помощью ацетоновой бани, добавляют навеску 1.3 экв. ТfOAg (4.33 г, 16.8 ммоль) и 1.3 экв. тетраметилмочевины (2 мл, 16.8 ммоль). Реакционную смесь выдерживают при постоянном перемешивании и защите от света в интервале температур от -40°С до -20°С. Реакцию контролируют методом TCX (система ПЭ:ЭА 2:1, R_f =0.5). По окончании реакции (1 час) в

реакционную смесь добавляют Et₃N (0.5 мл), после чего разбавляют EtOAc (250 мл) и моют Na₂S₂O_{3(ад.)} (250 мл) и дистиллированной водой (2×250 мл). Органический слой отделяют, сушат над Na₂SO_{4(безв.)} и концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система ПЭ:ЭА 5:1-3:1) из смеси выделяют аллилфукозид в виде чистого *β*-изомера (1.91 г, 5.53 ммоль). Полученный аллилфукозид растворяют в метаноле (10 мл) и при охлаждении с помощью ледяной бани прикапывают метилат натрия (4 мл, 0.1 М р-р в MeOH). Реакция проходит при комнатной температуре до полного исчезновения промежуточного Реакцию контролируют методом ТСХ (системы ЭА $R_{f}=0.23;$ продукта. $CH_2Cl_2:MeOH:H_2O$ 10:5:1, $R_f=0.9$). По окончании реакции (20 минут) в реакционную смесь добавляют ионообменную смолу IR-120 в H⁺ форме до нейтрального рН, после чего реакционную смесь фильтруют на стеклянном фильтре. Фильтрат концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система ЭА:МеОН 10:1) из смеси выделяют чистый β-продукт 47 (1.07 г, 5.24 ммоль, 21% от исходной фукозы).

Б) К раствору трихлорацетимидата 51 (2.4 г, 3.86 ммоль) и 1.5 экв. аллилового спирта (0.4 мл, 5.81 ммоль) в абсолютном CH₂Cl₂ (20 мл) в атмосфере аргона прибавляют молекулярные сита MS-4Å (1.5 г) (прокаленные при 200°С на вакууме в течение 2 часов), и перемешивают в течение 30 минут. Затем к реакционной смеси, охлажденной до -50°C с помощью ацетоновой бани, микрошприцом добавляют 0.5 экв. TMSOTf (375 мкл, 1.94 ммоль). Реакционную смесь выдерживают при постоянном перемешивании в интервале температур от -40°С до -20°С. Реакцию контролируют методом ТСХ (системы ПЭ:ЭА 2:1, R_f=0.44). По окончании реакции (1 час) в реакционную смесь добавляют Et₃N (0.5 мл), после чего реакционную смесь фильтруют на стеклянном фильтре через слой силикагеля, фильтр промывают ЭА. Фильтрат концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система ПЭ:ЭА 10:1→6:1) из смеси выделяют аллилфукозид в виде чистого β-изомера (1.87 г, 3.62 ммоль). Полученный аллилфукозид растворяют в метаноле (8 мл) и при охлаждении с помощью ледяной бани прикапывают метилат натрия (3 мл, 0.1 М р-р в МеОН). Реакция проходит при комнатной температуре до полного исчезновения промежуточного продукта. Реакцию контролируют методом TCX (системы ЭА R_f=0.23; CH₂Cl₂:MeOH:H₂O

10:5:1, R_f =0.9). По окончании реакции (20 минут) в реакционную смесь добавляют ионообменную смолу IR-120 в H⁺ форме до нейтрального pH, после чего реакционную смесь фильтруют на стеклянном фильтре. Фильтрат концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система ЭА:MeOH 10:1) из смеси выделяют чистый β-продукт **47** (632 мг, 3.1 ммоль, 80% от **51**, 25% от исходной фукозы).

 $[\alpha]_D = 29^\circ (c=1, EtOAc)$

¹Н ЯМР (600 МГц, CDCl₃): δ 1.22 (3H, d, *J*₅₋₆=6.7 Гц, H-6), 3.47-3.55 (2H, m, H-3, H-5), 3.59-3.67 (2H, m, H-2, H-4), 3.98 (1H, d, *J*=5.7 Гц, 4-O*H*), 4.05 (1H, dd, *J*=6.2 Гц, *J*=12.6 Гц, OC*H*H'CH), 4.18 (1H, d, *J*₁₋₂=7.7 Гц, H-1), 4.27 (1H, dd, *J*=5.2 Гц, *J*=12.6, OCH*H*'CH), 4.56 (1H, br s, 2-O*H*), 4.86 (1H, d, *J*=5 Гц, 3-O*H*), 5.09 (1H, d, *J*=10.6 Гц, CH₂CH=C*H*H'), 5.23 (1H, d, *J*=17.1 Гц, CH₂CH=CH*H*'), 5.84-5.92 (1H, m, CH₂C*H*=CH₂)

¹³C ЯМР (150.9 МГц, CDCl₃): δ 16.1 (C-6), 69.8 (OCH₂CH), 70.4 (C-5), 70.7 (C-2), 71.4 (C-4), 73.8 (C-3), 101.8 (C-1), 117.3 (CH₂CH=CH₂), 134.1 (CH₂CH=CH₂).

Аллил-3-О-бензоил-β-L-фукопиранозид (52)



К раствору аллилфукозида **47** (750 мг, 3.67 ммоль) в абсолютном ацетонитриле (15 мл) добавляют навеску 0.1 экв. 2-АРВ (2-аминоэтоксидифенил борат) (83 мг, 0.37 ммоль), а так же 1.5 экв. (*i*Pr)₂NEt (0.96 мл, 5.51 ммоль) и 1.5 экв. бензоил хлорида (0.64 мл, 5.51 ммоль). Реакция проходит при перемешивании при комнатной температуре. Контроль осуществляется методом TCX (ЭА, R_f =0.83). По окончании реакции (2 час) реакционную смесь разбавляют EtOAc (100 мл) и моют дистиллированной водой (2×150 мл). Органический слой отделяют, сушат над Na₂SO_{4(безв.)} и концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система ПЭ:ЭА 4:1→1:1) из смеси выделяют продукт **52** (1.11 г, 3.6 ммоль, 97%).

 $[\alpha]_D$ =-43° (c=1, EtOAc).

MS-ESI C₁₆H₂₀O₆ [M+Na]⁺; вычисл.: 331.1152, найдено: 331.1153.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): δ 1.31 (3H, d, J_{5-6} =6.5 Гц, H-6), 2.40 (1H, br s, 4-O*H*), 2.80 (1H, br s, 2-O*H*), 3.70 (1H, q, *J*=6.5 Гц, H-5), 3.92 (1H, br s, H-4), 3.98 (1H, t, *J*=10.1 Гц, H-2), 4.08-4.15 (1H, m, OC*H*H'CH), 4.35-4.39 (2H, m, H-1, OCH*H*'CH), 5.03 (1H, dd, J_{2-3} =10.1 Гц, J_{3-4} =3.2 Гц, H-3), 5.15-5.31 (2H, m, CH₂CH=C*H*₂), 5.79-5.90 (1H, m, CH₂C*H*=CH₂), 7.39 (2H, t, *J*=7.6 Гц, *m*-Ph), 7.53 (2H, t, *J*=7.6 Гц, *p*-Ph), 8.05 (2H, d, *J*=7.6 Гц, *o*-Ph).

¹³C ЯМР (100.6 МГц, CDCl₃): δ 16.1 (C-6), 69.1 (C-2), 70.1 (C-4), 70.2 (OCH₂CH), 70.5 (C-5), 76.3 (C-3), 102.2 (C-1), 117.8 (CH₂CH=CH₂), 128.4 (*p*-Ph), 129.8 (*m*-Ph), 132.2 (*o*-Ph), 133.8 (CH₂CH=CH₂).

Эксперимент по оптимизации условий реакции изомеризации

К пяти навескам аллилфукозида **47** (10 мг, 0.05 ммоль) в атмосфере аргона прибавляют раствор Ру·SO₃ (10.7 мг, 0.0675 ммоль, 1.35 экв./ 21.3 мг, 0.135 ммоль, 2.7 экв./ 42.6 мг, 0.27 ммоль, 5.6 экв./ 64.3 мг, 0.41 ммоль, 8.14 экв./ 127 мг, 0.80 ммоль, 16.07 экв.) и хлорсульфоновой кислоты (1.8 мкл, 0.0275 ммоль, 0.55 экв./ 3.6 мкл, 0.055 ммоль, 1.1 экв./ 7.2 мкл, 0.11 ммоль, 2.2 экв./ 11.8 мкл, 0.178 ммоль, 3.25 экв./ 23.7 мкл, 0.356 ммоль, 6.4 экв.) в ДМФА (0.1 мл/ 0.2 мл/ 0.4 мл/ 0.6 мл/ 1.2 мл). Реакция проходит при комнатной температуре при перемешивании. Через 2 часа в реакционную смесь добавляют избыток NaHCO_{3(aq)} до pH=7, после чего реакционную смесь концентрируют в вакууме. Затем полученный остаток растворяют в метаноле и отфильтровывают раствор от солей. Фильтрат концентрируют в вакууме, полученный остаток анализируют методом ЯМР-спектроскопии.

Натриевая соль аллил-2,3,5-три-О-сульфо-β-L-фукофуранозид (53)



К раствору аллилфукозида **47** (130 мг, 0.63 ммоль) в ДМФА (6.5 мл) в атмосфере аргона прибавляют навеску 7 экв. комплекса $Py \cdot SO_3$ (705 мг, 4.43 ммоль) и 2.75 экв. хлорсульфоновой кислоты (115 мкл, 1.73 ммоль). Реакция проходит при комнатной температуре при перемешивании. Через 3 часа в реакционную смесь добавляют избыток $NaHCO_{3(aq)}$ до pH=7, после чего реакционную смесь концентрируют в вакууме. Затем полученный остаток растворяют в метаноле и отфильтровывают раствор от солей. Фильтрат концентрируют в вакууме, полученный остаток анализируют методом ЯМР-спектроскопии. Получено **53** (308.5 мг, 0.6 ммоль, 95%).

¹H ЯМР (400 МΓц, D₂O): δ 1.45 (3H, d, J_{5-6} =6.6 Γц, H-6), 4.07-4.29 (3H, m, H-4, OCH₂CH), 4.77 (1H, dd, J_{4-5} =2.8 Γц, J_{5-6} =6.6 Γц, H-5), 4.86 (1H, s, H-2), 4.99 (1H, d, J_{3-4} =4.4 Hz, H-3), 5.42 – 5.26 (3H, m, H-1, CH₂CH=CH₂), 5.96 (1H, m, CH₂CH=CH₂).

¹³C ЯМР (100.6 МГц, D₂O): δ 20.1 (C-6), 71.3 (OCH₂CH), 77.6 (C-5), 84.2 (C-3), 87.3 (C-2), 88.1 (C-4), 107.6 (C-1), 121.9 (CH₂CH=CH₂), 136.7 (CH₂CH=CH₂).

Натриевая соль аллил-2,5-ди-*O*-сульфо-3-*O*-бензоил-β-L-фукофуранозид (54)



К раствору аллилфукозида **52** (84 мг, 0.27 ммоль) в ДМФА (4 мл) в атмосфере аргона прибавляют навеску 7 экв. комплекса $Py \cdot SO_3$ (290 мг, 1.9 ммоль) и 3.9 экв. хлорсульфоновой кислоты (70 мкл, 1 ммоль). Реакция проходит при комнатной температуре при перемешивании. Через 3 часа в реакционную смесь добавляют избыток NaHCO_{3(aq)} до pH=7, после чего реакционную смесь концентрируют в вакууме. Затем полученный остаток растворяют в метаноле и отфильтровывают раствор от солей. Фильтрат концентрируют в вакууме, полученный остаток анализируют методом ЯМР-спектроскопии. Получено **54** (135.5 мг, 0.265 ммоль, 98%).

MS-ESI C₁₆H₁₈O₁₂S₂Na₂ [M+Na]⁺; вычисл.: 534.9927, найдено: 534.9927.

¹Н ЯМР (400 МГц, D₂O): δ 1.47 (3H, d, *J*₅₋₆=6.5 Гц, H-6), 4.08 (1H, dd, *J*=5.6 Гц, *J*=13.2 Гц, ОС*H*Н'CH), 4.17-4.25 (2H, m, H-4, ОСН*H*'CH), 4.80-4.88 (2H, m, H-2, H-5), 5.17 (1H, d, *J*=10.5 Гц, CH₂CH=C*H*H'), 5.29 (1H, d, *J*=17.2 Гц, CH₂CH=CH*H*'), 5.44 (1H, s, H-1), 5.57 (1H, d, *J*₃₋₄=4.4 Гц, H-3), 5.96-5.84 (1H, m, CH₂C*H*=CHH'), 7.38 (2H, t, *J*=7.6 Гц, *m*-Ph), 7.54 (1H, t, *J*=7.6 Гц, *p*-Ph), 7.83 (2H, d, *J*=7.6 Гц, *o*-Ph)

¹³C ЯМР (100.6 МГц, D₂O): δ 17.3 (C-6), 68.2 (OCH₂CH), 74.7 (C-5), 78.5 (C-3), 84.8 (C-2), 85.2 (C-4), 105.2 (C-1), 117.8 (CH₂CH=CH₂), 128.0 (*p*-Ph), 130.0 (*m*-Ph), 134.3 (*o*-Ph), 134.5 (CH₂CH=CH₂), 165.3 (*C*(O)Ph).

Аллил-β-L-фукофуранозид (55)



К раствору сульфатированного аллилфукозида **53** (244.4 мг, 0.48 ммоль) в ДМФА (1 мл) и диоксане (5 мл) прибавляют ионообменную смолу IR-120 в H⁺ форме до pH=3. Реакция проходит при интенсивном перемешивании и t=60°C (масляная баня). Контроль осуществляется методом TCX (CH₂Cl₂:*i*PrOH 5:1, R_f =0.66). По окончании реакции (40 минут) в реакционную смесь добавляют избыток NaHCO_{3(аq)} до pH=7, и дистиллированную воду до растворения всех солей, после чего концентрируют в вакууме. Затем полученный остаток растворяют в метаноле и отфильтровывают раствор от солей. Фильтрат концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система CH₂Cl₂:MeOH 15:1) из смеси выделяют продукт **55** (80.4 мг, 0.39 ммоль, 82%).

[α]_D=101.2° (c=1, EtOAc).

¹Н ЯМР (600 МГц, CDCl₃): δ 1.35 (3H, d, *J*₅₋₆=6.5 Гц, H-6), 3.93 (1H, t, *J*=2.6 Гц, H-4), 3.97 (1H, br s, H-2), 4.00-4.07 (3H, m, H-3, H-5, OC*H*H'CH), 4.25 (1H, dd, *J*=5.3 Гц, *J*=12.9 Гц, OCH*H*'CH), 5.06 (1H, s, H-1), 5.23 (1H, d, *J*=10.4 Гц, CH₂CH=C*H*H'), 5.30 (1H, d, *J*=17.2 Гц, CH₂CH=CH*H*'), 5.88-5.96 (1H, m, CH₂C*H*=CH₂).

¹³C ЯМР (150.9 МГц, CDCl₃): δ 19.8 (C-6), 68.7 (C-5), 69.4 (OCH₂CH), 79.6 (C-3), 84.0 (C-2), 88.5 (C-4), 108.6 (C-1), 117.2 (CH₂CH=CH₂), 136.0 (CH₂CH=CH₂).

```
1,2,3,5-тетра-О-ацетил-а,β-L-фукофуранозид (57) [299]
```



К раствору сульфатированного аллилфукозида **53** (308.5 мг, 0.6 ммоль) в уксусной кислоте (5 мл) и уксусном ангидриде (10 мл) прибавляют 7 экв. концентрированную серную кислоту (300 мкл). Реакция проходит при комнатной температуре при перемешивании. Контроль осуществляется методом TCX (CH₂Cl₂:MeOH:H₂O 10:5:1, R_f=0.95; Tol:ЭА 1:1, R_f=0.7). По окончании реакции (20 часов) реакционную смесь разбавляют EtOAc (100 мл) и моют NaHCO_{3(ао)} (150 мл)

и дистиллированной водой (2×150 мл). Органический слой отделяют, сушат над Na₂SO_{4(безв.)} и концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система Tol:ЭА 7:1 \rightarrow 5:1) из смеси выделяют продукт **57** в виде смеси α и β -изомеров (190 мг, 0.57 ммоль, 95%).

Аллил-а, β-L-фукопиранозид (58)

К раствору фукозы **48** (2 г, 1.2 ммоль) в дистиллированной воде (20 мл) прибавляют навеску 2 экв. гидроксида натрия (1 г, 2.4 ммоль) и 2.5 экв. аллил бромида (2.5 мл, 3 ммоль). Реакция проходит при комнатной температуре при интенсивном перемешивании. Контроль осуществляется методом TCX (ЭА:MeOH 10:1, R_f =0.43). По окончании реакции (24 часа) реакционную смесь разбавляют дистиллированной водой (100 мл) и EtOAc (2×150 мл). Водный слой отделяют и концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система CH₂Cl₂:MeOH 20:1→10:1) из смеси выделяют продукт **60** (2.22 г, 1.09 ммоль, 91%) в виде смеси а и β-изомеров в соотношении 4:1.

Характеризация: α-изомер см. [296], β-изомер см. 47.

Аллил-β-L-фукофуранозид (55)



К раствору аллилфукозида **58** (137 мг, 0.67 ммоль) в ДМФА (5 мл) в атмосфере аргона прибавляют навеску 6.8 экв. комплекса $Py \cdot SO_3$ (725 мг, 4.5 ммоль) и 2.75 экв. хлорсульфоновой кислоты (125 мкл, 1.85 ммоль). Реакция проходит при комнатной температуре при перемешивании. Через 2 часа в реакционную смесь добавляют избыток NaHCO_{3(aq)} до pH=7, после чего реакционную смесь концентрируют в вакууме. Затем полученный остаток растворяют в метаноле и отфильтровывают раствор от солей. Фильтрат концентрируют в вакууме, затем растворяют в ДМФА (1 мл) и диоксане (5 мл). К раствору прибавляют ионообменную смолу IR-120 в H⁺ форме до pH=3. Реакция проходит при интенсивном перемешивании и t=60°C (масляная баня). Контроль

осуществляется методом TCX (CH₂Cl₂:*i*PrOH 5:1, R_f=0.66). По окончании реакции (40 минут) в реакционную смесь добавляют избыток NaHCO_{3(aq)} до pH=7, и дистиллированную воду до растворения всех солей, после чего концентрируют в вакууме. Затем полученный остаток растворяют в метаноле и отфильтровывают раствор от солей. Фильтрат концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система CH₂Cl₂:MeOH 15:1) из смеси выделяют продукт **55** (90.1 мг, 0.44 ммоль, 66%) в виде чистого β-изомера. Описан в п. 5.4.3.

Трихлорацетоимидат-2,3,5-три-О-бензил-β-L-фукофуранозид (61)



К раствору моносахарида 55 (90 мг, 0.44 ммоль) в ДМФА (2 мл) при охлаждении с помощью ледяной бани добавляют навеску 3,3 экв NaH (60%) (60 мг, 1.45 ммоль). Реакцию выдерживают 30 минут с хлоркальциевой трубкой до окончания газовыделения, после чего добавляют 3.3 экв. бензил бромида (175 мкл. 1.45 ммоль). Реакция проходит при перемешивании при комнатной температуре. Реакцию контролируют методом TCX (система Tol:ЭА 3:1, $R_f=0.8$). По окончании реакции (1 час) реакционную смесь разбавляют этилацетатом (50 мл), моют насыщенным раствором NaHCO_{3(аq)} (50 мл) и дистиллированной водой (2×50 мл). Органический слой отделяют, сушат над Na₂SO_{4(безв.)} и концентрируют в вакууме. хроматографией (система ПЭ:ЭА 10:1) из смеси Колоночной выделяют промежуточный продукт (160 мг, 0.34 ммоль, 77%), который затем растворяют в метаноле (4 мл) и добавляют 0.4 экв. дихлорида палладия (27 мг, 0.15 ммоль) и перемешивают до полного исчезновения исходного соединения. Реакцию контролируют методом TCX (система ПЭ:ЭА 3:1, $R_f=0.5$). По окончании реакции (1 час) реакционную смесь отфильтровывают через слой целита от Pd⁰, фильтр промывают метанолом. К фильтрату добавляют Et₃N (0.2 мл) и концентрируют его в вакууме. Колоночной хроматографией (система ПЭ:ЭА 8:1→3:1) из смеси выделяют полуацеталь в виде исключительно *β*-изомера. К раствору полученного полуацеталя (102.3 мг, 0,235 ммоль, 69%) в абсолютном CH₂Cl₂ (5 мл) добавляют навеску 3 экв. карбоната цезия (230 мг, 0.7 ммоль) и 5 экв. трихлорацетонитрила (120 мкл, 1.175 ммоль). Реакционную смесь интенсивно перемешивают при комнатной температуре до полного исчезновения полуацеталя. Реакцию контролируют методом TCX (система ПЭ:ЭА 3:1, пластинки пассивированы Et₃N, R_f =0.6). По окончании реакции (30 минут) реакционную смесь отфильтровывают через слой целита от карбоната цезия, фильтр промывают ЭА. Фильтрат концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система ПЭ:ЭА 10:1, колонка обработана 0,01 М раствора Et₃N в толуоле) из смеси выделяют трихлорацетимидат **61** в виде чистого β -изомера (100 мг, 0.173 ммоль, 73% от полуацеталя, 39% общий от аллилфукозида).

 $[\alpha]_{D}=21.5^{\circ}$ (c=1, EtOAc).

MS-ESI C₂₉H₃₀Cl₃NO₅ [M+Na]⁺; вычисл.: 600.1082, найдено: 600.1092.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): δ 1.14 (3H, d, J_{5-6} =6.4 Гц, H-6), 3.68 (1H, dd, J_{4-5} =5.2 Гц, J_{5-6} =6.3 Гц, H-5), 3.96 (1H, dd, J_{2-3} =1.8 Γц, J_{3-4} =5.9 Гц, H-3), 4.15 (1H, d, J_{2-3} =1.9 Гц, H-2), 4.25 (1H, t, J=5.4 Γц, H-4), 4.36 (2H, q, J=11.8 Γц, CH_2 Ph), 4.49 (3H, dt, J=9.8 Γц, J=11.9 Γц, CH_2 Ph, CHH'Ph), 4.62 (1H, d, J=11.9 Γц, CHH'Ph), 6.30 (1H, s, H-1), 7.11-7.28 (15H, 3xAr), 8.43 (1H, s, NH).

¹³C ЯМР (100.6 МГц, CDCl₃): δ 15.7 (C-6), 71.3 (CH₂Ph), 72.0 (2xCH₂Ph), 73.6 (C-5), 83.3 (C-3), 86.7 (C-2), 87.1 (C-4), 91.4 (CCl₃), 104.4 (C-1), 127.5-128.7 (5xAr), 137.5 (Ph), 137.8 (Ph), 138.6 (Ph), 161.1 (*C*(NH)CCl₃)

Аллил-3-О-бензоил-а, β-L-фукопиранозид (59)



К раствору аллилфукозида **58** (2 г, 1 ммоль) в абсолютном ацетонитриле (20 мл) добавляют навеску 0.1 экв. 2-АРВ (2-аминоэтоксидифенил борат) (220 мг, 0.1 ммоль), а так же 1.5 экв. (*i*Pr)₂NEt (2.56 мл, 1.5 ммоль) и 1.5 экв. бензоил хлорида (1.7 мл, 1.5 ммоль). Реакция проходит при перемешивании при комнатной температуре. Контроль осуществляется методом TCX (ЭА, R_f =0.83). По окончании реакции (1 час) реакционную смесь разбавляют EtOAc (250 мл) и моют дистиллированной водой (2×250 мл). Органический слой отделяют, сушат над Na₂SO_{4(безв.)} и концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система

ПЭ:ЭА 8:1 \rightarrow 4:1) из смеси выделяют продукт **59** (3 г, 0.973 ммоль, 97%) в виде смеси α и β -изомеров в соотношении 4:1.

Характеризация: α-изомер см. [296], β-изомер см. 52.

Аллил-3-О-бензоил-β-L-фукофуранозид (60)



К раствору аллилфукозида 59 (1 г, 3.2 ммоль) в ДМФА (20 мл) в атмосфере аргона прибавляют навеску 6.8 экв. комплекса Ру·SO₃ (3.5 г, 22 ммоль) и 2.75 экв. хлорсульфоновой кислоты (0.6 мл, 9 ммоль). Реакция проходит при комнатной температуре при перемешивании. Через 2 часа в реакционную смесь добавляют избыток NaHCO_{3(aq)} до pH=7, после чего реакционную смесь концентрируют в вакууме. Затем полученный остаток растворяют в метаноле и отфильтровывают раствор от солей. Фильтрат концентрируют в вакууме, затем растворяют в ДМФА (15 мл) и диоксане (40 мл). К раствору прибавляют ионообменную смолу IR-120 в H^+ форме до pH=3. Реакция проходит при интенсивном перемешивании и t=60°C (масляная баня). Контроль осуществляется методом TCX (ПЭ:ЭА 2:1, R_f=0.7). По окончании реакции (30 минут) в реакционную смесь добавляют избыток NaHCO_{3(аа)} до pH=7, и дистиллированную воду до растворения всех солей, после чего концентрируют в вакууме. Затем полученный остаток растворяют в метаноле и отфильтровывают раствор от солей. Фильтрат концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система ПЭ:ЭА 4:1->2:1) из смеси выделяют продукт **60** (655 мг, 2.1 ммоль, 66%) в виде чистого β-изомера.

 $[\alpha]_{D} = 64.5^{\circ}$ (c=1, EtOAc).

MS-ESI C₁₆H₂₀O₆ [M+Na]⁺; вычисл.: 331.1153, найдено: 331.1152.

¹H ЯМР (400 МΓц, CDCl₃): δ 1.27 (3H, d, J_{5-6} =6.4 Γц, H-6), 2.61 (1H, br s, 5-O*H*), 3.80 (1H, br s, 2-O*H*), 3.93-3.99 (1H, m, OC*H*H'CH), 4.04-4.10 (2H, m, H-4, H-5), 4.15-4.20 (1H, m, OCH*H*'CH), 4.22 (1H, s, H-2), 4.98 (1H, dd, J_{2-3} =1.3 Γц, J_{3-4} =4.0 Γц, H-3), 5.06 (1H, s, H-1), 5.10 (1H, dd, J=1.6 Γц, J=10.4 Γц, CH₂CH=C*H*H'), 5.26 (1H, dd, J=1.7 Γц, J=17.2 Γц, CH₂CH=CH*H*'), 5.80-5.85 (1H, m, CH₂C*H*=CH₂), 7.36 (2H, t, J=7.6 Γц, *m*-Ph), 7.51 (1H, t, J=7.6 Γц, *p*-Ph), 7.95 (2H, d, J=7.6 Γц, *o*-Ph). ¹³C ЯМР (100.6 МГц, CDCl₃): δ 19.8 (C-6), 67.7 (C-5), 68.1 (OCH₂CH), 80.1 (C-2), 81.8 (C-3), 86.1 (C-4), 107.5 (C-1), 117.0 (CH₂CH=CH₂), 128.5 (*p*-Ph), 129.9 (*m*-Ph), 133.5 (*o*-Ph), 134.3 (CH₂CH=CH₂), 167.0 (*C*(O)Ph).

Трихлорацетоимидат-2,5-ди-*O*-бензил-3-*O*-бензоил-α,β-L-фукофуранозид (19)



К раствору моносахарида **60** (770 мг, 2.5 ммоль) в абсолютном CH₂Cl₂ (8 мл) в атмосфере аргона прибавляют молекулярные сита MS-4Å (800 мг) (прокаленные при 200°С на вакууме в течение 2 часов), и перемешивают в течение 30 минут. Затем добавляют 5 экв. бензил бромида (1.5 мл, 12.5 ммоль) и перемешивают реакционную смесь в течение еще 30 минут, после чего добавляют 6 экв. свежеприготовленного оксида серебра (I) (3.5 г, 15 ммоль). Реакция проходит при интенсивном перемешивании и защите от света при комнатной температуре. Реакцию контролируют методом TCX (система Tol:ЭА 2:1, R_f=0.83). По окончании реакции (20 часов) реакционную смесь отфильтровывают через слой целита от оксида серебра, фильтр промывают ЭА. Фильтрат концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система ПЭ:ЭА 20:1) из смеси выделяют промежуточный продукт (1 г, 2.05 ммоль, 82%), который затем растворяют в метаноле (10 мл) и добавляют 0.4 экв. дихлорида палладия (145 мг, 0.8 ммоль) и перемешивают до полного исчезновения промежуточного соединения. Реакцию контролируют методом TCX (система ПЭ:ЭА 3:1, R_f=0.4). По окончании реакции (1 час) реакционную смесь отфильтровывают через слой целита от Pd⁰, фильтр промывают метанолом. К фильтрату добавляют Et₃N (0.4 мл) и концентрируют его в вакууме. Колоночной хроматографией (система ПЭ:ЭА 8:1→3:1) из смеси выделяют полуацеталь в виде исключительно β-изомера. К раствору полученного полуацеталя (750 мг, 1,67 ммоль, 82%) в абсолютном CH₂Cl₂ (5 мл) добавляют навеску 3 экв. карбоната цезия (1.63 г, 5 ммоль) и 5 экв. трихлорацетонитрила (0.84 мл, 8.35 ммоль). Реакционную смесь интенсивно перемешивают при комнатной температуре до полного исчезновения полуацеталя. Реакцию контролируют

методом ТСХ (система ПЭ:ЭА 3:1, пластинки пассивированы Et₃N, R_f=0.6). По окончании реакции (30 минут) реакционную смесь отфильтровывают через слой целита от карбоната цезия, фильтр промывают ЭА. Фильтрат концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система ПЭ:ЭА 15:1, колонка обработана 0,01 М раствора Et₃N в толуоле) из смеси выделяют трихлорацетимидат **19** в виде чистого β -изомера (720 мг, 1.2 ммоль, 73% от полуацеталя, 48% общий от аллилфукозида).

 $[\alpha]_D=22^{\circ}$ (c=1, EtOAc).

MS-ESI C₂₉H₂₈Cl₃NO₆ [M+Na]⁺; вычисл.: 614.0889, найдено: 614.0874.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): δ 1.20 (3H, d, J_{5-6} =6.4 Гц, H-6), 3.81-3.85 (1H, m, H-5), 4.19 (1H, s, H-2), 4.49 (1H, dd, J_{3-4} =4.0 Γц, J_{4-5} =5.5 Γц, H-4), 4.52-4.81 (4H, m, 2xCH₂Ph), 5.47 (1H, d, J_{3-4} =4.0 Γц, H-3), 6.41 (1H, s, H-1), 7.10-7.53 (13H, m, 3xAr), 7.99 (2H, d, J=7.6 Γц, o-Ph), 8.48 (1H, s, NH).

¹³C ЯМР (100.6 МГц, CDCl₃): δ 15.7 (C-6), 71.7 (*C*H₂Ph), 72.0 (*C*H₂Ph), 74.0 (C-5), 76.7 (C-3), 86.3 (C-2), 87.9 (C-4), 90.9 (*C*Cl₃), 104.4 (C-1), 127.5-129.9 (3xAr), 133.5 (Bz), 137.5 (Bn), 138.6 (Bn), 160.8 (*C*(NH)CCl₃), 165.8 (*C*(O)Ph).

Метил (аллил-2,3-ди-*O*-бензил-4-*O*-(2,3,5-три-*O*-бензил-α,β-Lфукофуранозил)-α-D-глюкопиранозил) уронат (62)



К раствору акцептора **33** (74 мг, 0.173 ммоль) и донора **61** (100 мг, 0.173 ммоль) в абсолютном CH_2Cl_2 (1.5 мл) в атмосфере аргона прибавляют молекулярные сита MS-4Å (100 мг) (прокаленные при 200°С на вакууме в течение 2 часов), и перемешивают в течение 30 минут. Затем к реакционной смеси, охлажденной до -50°С с помощью ацетоновой бани, микрошприцом добавляют 0.5 экв. TMSOTf (10 мкл, 0.086 ммоль). Реакционную смесь выдерживают при постоянном перемешивании в интервале температур от -40°С до -20°С. Реакцию контролируют методом TCX (системы Tol:ЭА 3:1, R_f =0.5). По окончании реакции (1 час) в реакционную смесь добавляют Et_3N (0.2 мл), после чего реакционную смесь фильтруют на стеклянном фильтре через слой силикагеля, фильтр промывают ЭА. Фильтрат концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией

(система ПЭ:ЭА 20:1 \rightarrow 4:1) из смеси выделяют продукт **62** (88 мг, 0.104 ммоль, 60%) в виде смеси α и β -изомеров в соотношении 1:2.

MS-ESI C₅₁H₅₆O₁₁ [M+Na]⁺; вычисл.: 867.3715, найдено: 867.3726.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): δ 1.03 (3H, d, J_{5-6} =6.3 Γц, H-6 (Fuc α)), 1.20 (3H, d, J_{5-6} =6.4 Γц, H-6 (Fuc β)), 3.48-3.60 (2H, m, H-2 (GlcA α), H-2 (GlcA β)), 5.63-5.74 (4H, m, H-5 (Fuc α), H-5 (Fuc β), H-3 (GlcA α), H-3 (GlcA β)), 3.70 (3H, s, OMe α)), 3.71 (3H, s, OMe β)), 3.79 (1H, t, J=6.5 Γц, H-4 (Fuc α)), 3.89-3.94 (2H, m, H-3 (Fuc β), H-5 (GlcA α)), 3.95-4.04 (5H, m, H-5 (GlcA β), H-2 (Fuc α), H-3 (Fuc α), H-2 (Fuc β), H-4 (Fuc β)), 4.07-4.17 (4H, m, H-4 (GlcA α), H-4 (GlcA β), OCHH'CH α, OCHH'CH β), 4.28 (2H, q, J=11.7 Γц, CH_2 Ph β), 4.38-4.46 (4H, m, OCHH'CH α, OCHH'CH β, CHH'Ph α, CHH'Ph β, 4.46-4.59 (8H, m, H-1 (GlcA α), H-1 (GlcA β), CHH'Ph α, CHH'Ph α, CHH'Ph β, CH₂Ph α), 4.59-4.78 (4H, CHH'Ph α, CHH'Ph β, CHH'Ph β, 4.81-5.00 (4H, CHH'Ph α, CHH'Ph β, CH_2 Ph α), 5.19-5.22 (3H, m, H-1 (Fuc α), CH₂CH=CHH' α, CH₂CH=CHH' β), 5.49 (1H, s, H-1 (Fuc β)), 5.88-5.99 (2H, m, CH₂CH=CH₂ α, CH₂CH=CH₂ β), 7.20-7.41 (50H, 5xAr α, 5xAr β).

¹³C ЯМР (100.6 МГц, CDCl₃): δ 15.6 (C-6 (Fuc α), 15.7 (C-6 (Fuc β), 52.5 (OMe α), 52.6 (OMe β), 70.4 (OCH₂CH α), 70.5 (OCH₂CH β), 71.1 (CH₂Ph α), 71.3 (CH₂Ph β), 71.4 (CH₂Ph β), 71.9 (CH₂Ph β), 72.1 (CH₂Ph α), 72.4 (CH₂Ph α), 74.0 (C-5 (Fuc β)), 74.7 (C-5 (GlcA α), 74.7 (CH₂Ph α), 74.8 (CH₂Ph β), 75.1 (2x CH₂Ph α,β), 75.2 (C-5 (GlcA β)), 76.0 (C-4 (GlcA β)), 76.1 (C-4 (GlcA α)), 76.5 (C-5 (Fuc α)), 80.8 (C-3 (Fuc α)), 81.6 (C-2 (GlcA β)), 81.8 (C-2 (GlcA α)), 82.7 (C-3 (GlcA α)), 83.1 (C-3 (Fuc β)), 83.3 (C-4 (Fuc α)), 83.6 (C-3 (GlcA β)), 84.1 (C-2 (Fuc α)), 85.3 (C-4 (Fuc β)), 88.2 (C-2 (Fuc β)), 99.8 (C-1 (Fuc α)), 102.6 (C-1 (GlcA α)), 102.7 (C-1 (GlcA β)), 107.1 (C-1 (Fuc β)), 117.6 (CH₂CH=CH₂ α), 117.7 (CH₂CH=CH₂ β), 127.2-128.5 (5xAr α, 5xAr β), 133.7 (CH₂CH=CH₂ β), 133.8 (CH₂CH=CH₂ α), 137.5-139.07 (5xAr α, 5xBn β), 168.7 (C-6 (GlcA β)), 169.5 (C-6 (GlcA α)).

Метил (аллил-2,3-ди-*O*-бензил-4-*O*-(2,5-ди-*O*-бензил-3-*O*-бензоил-α-Lфукофуранозил)-α-D-глюкопиранозил) уронат (63а)

Метил (аллил-2,3-ди-*O*-бензил-4-*O*-(2,5-ди-*O*-бензил-3-*O*-бензоил-β-Lфукофуранозил)-α-D-глюкопиранозил) уронат (63b)



К раствору акцептора **33** (214 мг, 0.5 ммоль) и донора **19** (277 мг, 0.47 ммоль) в абсолютном CH_2Cl_2 (5 мл) в атмосфере аргона прибавляют молекулярные сита MS-4Å (400 мг) (прокаленные при 200°С на вакууме в течение 2 часов), и перемешивают в течение 30 минут. Затем к реакционной смеси, охлажденной до -50°С с помощью ацетоновой бани, микрошприцом добавляют 0.5 экв. TMSOTf (50 0.25 ммоль). Реакционную смесь выдерживают при постоянном МКЛ, перемешивании в интервале температур от -40°С до -20°С. Реакцию контролируют методом TCX (системы Tol:ЭА 3:1, R_f=0.4). По окончании реакции (1 час) в реакционную смесь добавляют Et₃N (0.5 мл), после чего реакционную смесь фильтруют на стеклянном фильтре через слой силикагеля, фильтр промывают ЭА. Фильтрат концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система ПЭ:ЭА 15:1→6:1) из смеси выделяют чистый α-изомер **63a** (160 мг, 0.208 ммоль, 44%) и βизомер 63b (28 мг, 0.037 ммоль, 8%). Соотношение изомеров 5.7:1.

α-изомер:

 $[\alpha]_D$ =-31° (c=1, EtOAc).

MS-ESI C₅₁H₅₄O₁₂ [M+Na]⁺; вычисл.: 881.3507, найдено: 881.3511.

¹H ЯМР (600 МΓц, CDCl₃): δ 1.12 (3H, d, J_{5-6} =6.4 Γц, H-6 (Fuc)), 3.55 (1H,t, J=8.2 Γц, H-2 (GlcA)), 3.72 (1H, t, J=8.8 Γц, H-3 (GlcA)), 3.79-3.83 (4H, m, H-5 (Fuc), OMe), 3.93-3.97 (2H, m, H-5 (GlcA), H-4 (Fuc)), 4.01-4.05 (2H, m, H-2 (Fuc), H-4 (GlcA)), 4.13-4.17 (1H, m, OCHH'CH), 4.42-4.46 (1H, m, OCHH'Ph), 4.48 (1H, d, J=12.8 Γц, CHH'Ph), 4.53 (1H, d, J_{1-2} =7.7 Γц, H-1 (GlcA)), 4.63 (2H, d, J=3.1 Γц, CH₂Ph), 4.67 (1H, d, J=12.7 Γц, CHH'Ph), 4.73 (1H, d, J=11.0 Γц, CHH'Ph), 4.89 (1H, d, J=10.4 Γц, CHH'Ph), 4.97 (2H, dd, J=10.7 Γц, J=8.0 Γц, 2xCHH'Ph), 5.24 (1H, dd, J=1.4 Γц, J=10.4 Γц, CH₂CH=CHH'), 5.33-5.39 (2H, m, H-1 (Fuc), CH₂CH=CHH'), 5.90-6.00 (1H, m, CH₂CH=CH₂), 7.18-7.36 (20H, m, 4xPh), 7.47 (2H, t, J=6.8 Γц, m-Ph (Bz)), 7.62 (1H, t, J=7.4 Γц, p-Ph (Bz)), 7.96 (2H, d, J=7.5 Γц, o-Ph (Bz)).

¹³C ЯМР (150.9 МГц, CDCl₃): δ 15.6 (C-6 (Fuc)), 52.7 (OMe), 70.5 (OCH₂CH), 71.7 (CH₂Ph), 72.2 (CH₂Ph), 74.4 (C-5 (GlcA)), 74.9 (CH₂Ph), 75.4 (C-3 (Fuc)), 75.5 (CH₂Ph), 76.5 (C-5 (Fuc)), 77.2 (C-4 (GlcA)), 81.9 (C-2 (GlcA)), 82.0 (C-2 (Fuc)), 83.0 (C-4 (Fuc)), 83.6 (C-3 (GlcA)), 101.0 (C-1 (Fuc)), 102.7 (C-1 (GlcA)), 117.7 (CH₂CH=CH₂), 127-130 (Ar), 133.3 (Bz), 133.9 (CH₂CH=CH₂), 137.8 (Bn), 138.4 (Bn), 138.7 (Bn), 139.1 (Bn), 165.5 (*C*(O)Ph), 169.3 (C-6 (GlcA)).

β-изомер:

¹H ЯМР (600 МΓҵ, CDCl₃): δ 1.26 (3H, d, $J_{5.6}$ =6.4 Гҵ, H-6 (Fuc)), 3.55-3.63 (2H, m, H-2 (GlcA), H-3 (GlcA)), 3.77 (3H, s, OMe), 3.78-3.85 (1H, m, H-5 (Fuc)), 3.94 (1H, d, $J_{4.5}$ =9.7 Γҵ, H-5 (GlcA)), 4.04 (1H, s, H-2 (Fuc)), 4.11 (1H, d, $J_{4.5}$ =9.0 Γҵ, H-4 (GlcA)), 4.15 (1H, dd, J=13.5 Γҵ, J=7.0 Γҵ, OCHH'CH), 4.27 (1H, dd, $J_{3.4}$ =4.4 Γҵ, $J_{4.5}$ =5.7 Γҵ, H-4 (Fuc)), 4.43-4.47 (1H, m, OCHH'CH), 4.49 (1H, d, J=11.8 Γҵ, CHH'Ph), 4.52 (1H, d, J_{1-2} =7.4 Γҵ, H-1 (GlcA)), 4.65-4.73 (5H, m, CH₂Ph, CHH'Ph, 2xCHH'Ph), 4.87 (1H, d, J=11.0 Γҵ, CHH'Ph), 4.95 (1H, d, J=11.0 Γҵ, CHH'Ph), 5.25 (1H, dd, J=10.5 Γҵ, J=1.4 Γҵ, CH₂CH=CHH'), 5.37 (1H, dd, J=1.6 Γҵ, J=17.3 Γҵ, CH₂CH=CHH'), 5.42 (1H, d, $J_{3.4}$ =4.3 Γҵ, H-3 (Fuc)), 5.61 (1H, s, H-1 (Fuc)), 5.92-6.00 (1H, m, CH₂CH=CH₂), 7.19-7.37 (20H, m, 4xAr), 7.51 (2H, t, J=7.8 Γҵ, m-Ph (Bz)), 7.63 (1H, t, J=7.4 Γҵ, p-Ph (Bz)), 8.14 (2H, d, J=7.15 Γҵ, o-Ph (Bz)).

¹³C ЯМР (150.9 МГц, CDCl₃): δ 16.0 (C-6 (Fuc)), 52.8 (OMe), 70.6 (OCH₂CH), 71.5 (CH₂Ph), 71.7 (CH₂Ph), 74.5 (C-5 (Fuc)), 74.9 (CH₂Ph), 75.6 (C-5 (GlcA), CH₂Ph), 76.4 (C-4 (GlcA)), 77.1 (C-3 (Fuc)), 81.6 (C-2 (GlcA)), 83.7 (C-3 (GlcA)), 85.6 (C-4 (Fuc)), 87.2 (C-2 (Fuc)), 102.7 (C-1 (GlcA)), 107.7 (C-1 (Fuc)), 117.8 (CH₂CH=CH₂), 127-130 (Ar), 133.4 (Bz), 133.7 (CH₂CH=CH₂), 137.6 (Bn), 138.1 (Bn), 138.2 (Bn), 138.8 (Bn), 165.9 (C(O)Ph), 168.5 (C-6 (GlcA)).

5.3.5. Синтез пентасахаридов 8-10

Аллил-2-*О*-бензил-3-*О*-(2-*О*-[Метил (2,3-ди-*О*-бензил-4-*О*-(*трет*бутил-диметил)-силил-α,β-D-глюкопиранозил) уронат]-3-*О*-хлорацетил-4-*О*-бензоил-α-L-фукопиранозил)-4-*О*-бензоил-α-L-фукопиранозид (64)



К раствору акцептора **35** (290 мг, 0.4 ммоль, 1.1 экв.) и донора **18** (400 мг, 0.62 ммоль, 1.55 экв.) в абсолютном CH_2Cl_2 (10 мл) в атмосфере аргона прибавляют молекулярные сита MS-4Å (800 мг) (прокаленные при 200°С на вакууме в течение 2 часов), и перемешивают в течение 30 минут. Затем к реакционной смеси, охлажденной до -40°С с помощью ацетоновой бани, микрошприцом добавляют 0.15 экв. TMSOTf (10 мкл, 0.06 ммоль). Реакционную смесь выдерживают при постоянном перемешивании в интервале температур от -40°С до -20°С. Реакцию контролируют методом TCX (система ПЭ:ЭА 3:1, R_f =0.55). По окончании реакции (1 час) в реакционную смесь добавляют Et_3N (0.5 мл), после чего реакционную смесь фильтруют на стеклянном фильтре через слой силикагеля, фильтр промывают ЭА. Фильтрат концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система ПЭ:ЭА 15:1→8:1) из смеси выделяют продукт в виде смеси α и β -изомеров **64** (420 мг, 0.35 ммоль, 87%), соотношение α : β =4:1. Разделить изомеры хроматографическим путем оказалось невозможным.

MS-ESI C₆₅H₇₇ClO₁₈Si [M+Na]⁺; вычисл.: 1231.4460, найдено: 1231.4455. α-изомер:

¹H 9MP (600 MΓμ, CDCl₃): δ 0.11 (3H, s, C(CH₃)(CH₃)), 0.13 (3H, s, C(CH₃)(CH₃)), 0.88 (9H, s, C(CH₃)₃), 0.96 (3H, d, $J_{5.6}$ =6.5 Γμ, H-6 (Fuc')), 1.15 (3H, d, $J_{5.6}$ =6.5 Γμ, H-6 (Fuc)), 3.44 (1H, d, J=15.4 Γμ, C(O)CHH'Cl), 3.54-3.60 (2H, m, H-2 (GlcA), C(O)CHH'Cl), 3.78 (3H, s, OMe), 3.82-3.86 (2H, m, H-3 (GlcA), H-5 (GlcA)), 4.01-4.08 (2H, m, H-2 (Fuc), OCHH'CH), 4.18-4.25 (2H, H-5 (Fuc), OCHH'CH), 4.26-4.30 (1H, m, H-2 (Fuc')), 4.31-4.35 (1H, m, H-4 (GlcA)), 4.39-4.49 (2H, m, H-3 (Fuc), H-5 (Fuc')), 4.50-4.70 (4H, m, 2xCH₂Ph), 4.75-4.84 (2H, m, CH₂Ph), 5.01 (1H, d, $J_{1.2}$ =3.7 Γμ, H-1 (Fuc)), 5.19 (1H, d, $J_{1.2}$ =3.9 Γμ, H-1 (GlcA)), 5.25 (1H, d, J=10 Γμ, CH₂CH=CHH'), 5.52 (1H, d, $J_{2.3}$ =10.7 Γμ, $J_{3.4}$ =3.4 Γμ, H-3 (Fuc')), 5.77 (1H, d, $J_{3.4}$ =3.2 Γμ, H-4 (Fuc)), 5.92-6.00 (1H, m, CH₂CH=CH₂), 7.05-7.50 (21H, 5xAr), 8.05 (2H, d, J=7.4 Γμ, Bz), 8.17 (2H, d, J=7.4 Γμ, Bz).

¹³C ЯМР (150.9 МГц, CDCl₃): δ -5.4 (C(*C*H₃)(CH₃), -3.9 (C(CH₃)(*C*H₃), 15.7 (C-6 (Fuc')), 16.2 (C-6 (Fuc)), 25.8 (C(*C*H₃)₃), 40.4 (C(O)*C*H₂Cl), 52.4 (OMe), 65.0 (C-5 (Fuc')), 65.5 (C-5 (Fuc)), 68.5 (OCH₂CH), 71.7 (C-4 (Fuc')), 72.3-72.8 (C-2 (Fuc'), C-3 (Fuc'), C-4 (Fuc'), C-4 (Fuc), C-4 (GlcA), C-5 (GlcA), 2x*C*H₂Ph), 74.6 (*C*H₂Ph), 74.9

(C-3 (Fuc)), 75.8 (C-2 (Fuc)), 80.0 (C-2 (GlcA)), 80.2 (C-3 (GlcA)), 95.9 (C-1 (Fuc)), 98.1 (C-1 (Fuc), C-1 (GlcA)), 117.9 (CH₂CH=CH₂), 126.7-130.4 (5xAr), 133.4 (CH₂CH=CH₂), 137.8 (Bn), 138.1 (Bn), 139.0 (Bn), 165.7 (*C*(O)CH₂Cl), 166.1 (*C*(O)Ph), 166.3 (*C*(O)Ph), 169.9 (C-6 (GlcA)).

β-изомер:

¹H ЯМР (600 МΓц, CDCl₃): δ -0.11 (3H, s, C(CH₃)(CH₃)), -0.08 (3H, s, C(CH₃)(CH₃)), 0.81 (9H, s, C(CH₃)₃), 1.05 (3H, d, $J_{5.6}$ =6.5 Γц, H-6 (Fuc')), 1.10 (3H, d, $J_{5.6}$ =6.5 Γц, H-6 (Fuc)), 2.91 (1H, t, J=8.7 Γц, H-3 (GlcA)), 3.00 (1H, t, J=8.7 Γц, H-2 (GlcA)), 3.61 (1H, t, J=8.7 Γц, H-4 (GlcA)), 3.72 (3H, s, OMe), 3.78 (1H, d, $J_{4.5}$ =9.5 Γц, H-5 (GlcA)), 3.95-4.16 (5H, m, H-2 (Fuc), H-5 (Fuc), C(O)CH₂Cl, OCHH'CH), 4.20 (1H, dd, J=5 Γц, J=13 Γц, OCHH'CH), 4.29 (1H, d, J=11.5 Γц, CHH'Ph), 4.33-4.42 (3H, m, H-3 (Fuc), H-2 (Fuc'), CHH'Ph), 4.42-4.50 (3H, m, H-1 (GlcA), H-5 (Fuc'), CHH'Ph), 4.55-4.75 (3H, m, CH₂Ph, CHH'Ph), 4.99 (1H, d, J_{1-2} =3.7 Γц, H-1 (Fuc)), 5.23 (1H, dd, J=1.5 Γц, J=17.3 Γц, CH₂CH=CHH'), 5.49 (1H, d, J_{1-2} =3.4 Γц, H-1 (Fuc')), 5.60-5.65 (2H, m, H-4 (Fuc), H-3 (Fuc')), 5.89-6.01 (1H, m, CH₂CH=CH₂), 7.03-7.60 (21H, 5xAr), 8.04 (2H, d, J=7.2 Γц, Bz), 8.10 (2H, d, J=7.3 Γц, Bz).

¹³C ЯМР (150.9 МГц, CDCl₃): δ -5.5 (C(CH₃)(CH₃), -4.2 (C(CH₃)(CH₃), 15.8 (C-6 (Fuc')), 16.3 (C-6 (Fuc)), 25.6 (C(CH₃)₃), 40.7 (C(O)CH₂Cl), 52.2 (OMe), 64.9 (C-5 (Fuc')), 65.2 (C-5 (Fuc)), 68.5 (OCH₂CH), 70.1 (C-3 (Fuc), C-2 (Fuc')), 70.1 (C-3 (Fuc')), 71.2 (C-4 (Fuc)), 71.6 (C-4 (Fuc')), 71.7 (C-4 (GlcA)), 73.2 (CH₂Ph), 73.5 (CH₂Ph), 74.5 (CH₂Ph), 74.6 (C-2 (Fuc)), 76.0 (C-5 (GlcA)), 81.4 (C-2 (GlcA)), 83.3 (C-3 (GlcA)), 91.7 (C-1 (Fuc')), 96.2 (C-1 (Fuc)), 99.8 (C-1 (GlcA)), 117.7 (CH₂CH=CH₂), 126.5-129.0 (5xAr), 133.9 (CH₂CH=CH₂).

Аллил-2-*О*-бензил-3-*О*-(2-*О*-[Метил (2,3-ди-*О*-бензил-α-Dглюкопиранозил) уронат]-3-*О*-хлорацетил-4-*О*-бензоил-α-L-фукопиранозил)-4-*О*-бензоил-α-L-фукопиранозид (65)



К раствору трисахарида **64** (775 мг, 0.64 ммоль, смесь α и β -изомеров в соотношении 3:1) в абсолютном ацетонитриле (13 мл) добавляют HF 40%_(аq.) (2 мл). Реакция проходит при t=40°C. Реакцию контролируют методом TCX (система Tol:Aцетон 10:1, R_f=0.5 для α -продукта и R_f=0.37 для β -продукта). По окончании реакции (2 часа) реакционную смесь разбавляют EtOAc (100 мл) и моют NaHCO_{3(aq)} (150 мл) и дистиллированной водой (2×150 мл). Органический слой отделяют, сушат над Na₂SO_{4(безв.)} и концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система Tol:Aцетон 50:1→30:1) из смеси выделяют продукт **65** в виде чистого α -изомера (540 мг, 0.49 ммоль, 77%).

 $[\alpha]_{D}$ =-135.5° (c=1, EtOAc).

MS-ESI C₅₉H₆₃ClO₁₈ [M+Na]⁺; вычисл.: 1117.3595, найдено: 1117.3594.

¹H ЯМР (600 МГц, CDCl₃): δ 0.96 (3H, d, J_{5-6} =6.5 Γц, H-6 (Fuc')), 1.16 (3H, d, J_{5-6} =6.5 Γц, H-6 (Fuc)), 3.48 (1H, dd, J_{1-2} =3.1 Γц, J_{2-3} =8.1 Γц, H-2 (GlcA)), 3.54 (1H, t, J=7.6 Γц, H-3 (GlcA)), 3.64 (2H, dd, J=15.4 Γц, J=55.8 Γц, CH₂Cl), 3.81 (3H, s, OMe), 3.88-3.94 (1H, m, H-4 (GlcA)), 4.11 (1H, dd, J=6.0 Γц, J=13.3 Γц, OCHH'CH), 4.17-4.23 (2H, m, H-2 (Fuc)), H-5 (Fuc)), 4.27 (1H, dd, J=5.0 Γц, J=13.3 Γц, OCHH'CH), 4.17-4.23 (2H, m, H-2 (Fuc)), H-5 (Fuc)), 4.27 (1H, dd, J=5.0 Γц, J=10.3 Γц, OCHH'CH), 4.32 (1H, d, J=11.4 Γц, CHH'Ph), 4.35 (1H, dd, J_{1-2} =3.4 Γц, J_{2-3} =10.7 Γц, H-2 (Fuc')), 4.43-4.54 (4H, m, H-5 (GlcA), CH₂Ph, CHH'Ph), 4.58 (1H, dd, J_{2-3} =10.4 Γц, J_{3-4} =2.9 Γц, H-3 (Fuc)), 4.69 (1H, q, J=6.4 Γц, H-5 (Fuc)), 4.77-4.82 (2H, m, CH₂Ph), 5.13 (1H, d, J_{1-2} =3.5 Γц, H-1 (Fuc)), 5.18 (1H, d, J_{1-2} =3.0 Γц, H-1 (GlcA)), 5.29 (1H, dd, J=1.2 Γц, J=10.5 Γц, CH₂CH=CHH'), 5.35 (1H, d, J_{2-3} =10.7 Γц, H-3 (Fuc')), 5.41-5.46 (2H, m, H-1 (Fuc'), CH₂CH=CHH'), 5.65 (1H, dd, J_{2-3} =10.7 Γц, H-3 (Fuc')), 5.72 (1H, d, J_{3-4} =2.7 Γц, H-4 (Fuc)), 5.98-6.6 (1H, m, CH₂CH=CH₂), 7.15-7.55 (20H, 5xAr), 7.63 (1H, t, J=7.3 Γц, p-Ph (Bz)), 8.11 (2H, d, J=7.3 Γц, o-Ph (Bz)), 8.14 (2H, d, J=7.2 Γц, o-Ph (Bz)).

¹³C ЯМР (150.9 МГц, CDCl₃): δ 15.5 (C-6 (Fuc')), 16.4 (C-6 (Fuc)), 40.4 (*C*H₂Cl), 52.4 (OMe), 64.7 (C-5 (Fuc')), 65.9 (C-5 (Fuc)), 68.5 (OCH₂CH), 71.3 (C-4 (GlcA)), 71.4 (C-3 (Fuc)), 71.8 (C-4 (Fuc')), 72.0 (C-3 (Fuc')), 72.1 (C-4 (Fuc)), 72.8 (*C*H₂Ph), 72.9 (*C*H₂Ph), 73.1 (C-5 (GlcA)), 73.3 (C-2 (Fuc')), 73.9 (*C*H₂Ph), 74.9 (C-2 (Fuc)), 77.0 (C-2 (GlcA)), 79.7 (C-3 (GlcA)), 95.9 (C-1 (Fuc')), 91.1 (C-1 (Fuc)), 99.1 (C-1 (GlcA)), 117.4 (CH₂CH=CH₂), 127-130 (Ar), 133.3 (Bz), 133.4 (Bz), 133.9 (CH₂CH=*C*H₂), 137.8

(Bn), 137.8 (Bn), 138.4 (Bn), 166.2 (*C*(O)Ph), 166.3 (*C*(O)Ph), 167.5 (*C*(O)CH₂Cl), 170.0 (C-6 (GlcA)).

Аллил-2-*O*-бензил-3-*O*-(2-*O*-[Метил (2,3-ди-*O*-бензил-4-*O*-(2,5-ди-*O*-бензил-3-*O*-бензоил-α-L-фукофуранозил)-α-D-глюкопиранозил) уронат]-3-*O*хлорацетил-4-*O*-бензоил-α-L-фукопиранозил)-4-*O*-бензоил-α-L-фукопиранозид (66)



К раствору акцептора **65** (540 мг, 0.49 ммоль) и донора **19** (350 мг, 0.59 ммоль, 1.2 экв.) в абсолютном CH₂Cl₂ (10 мл) в атмосфере аргона прибавляют молекулярные сита MS-4Å (700 мг) (прокаленные при 200°С на вакууме в течение 2 часов), и перемешивают в течение 30 минут. Затем к реакционной смеси, охлажденной до -50°С с помощью ацетоновой бани, микрошприцом добавляют 0.5 экв. TMSOTf (50 мкл, 0.25 ммоль). Реакционную смесь выдерживают при постоянном перемешивании в интервале температур от -40°С до -20°С. Реакцию контролируют методом TCX (системы ПЭ:ЭА 3:1, R_f =0.35). По окончании реакции (1 час) в реакционную смесь добавляют Et₃N (0.5 мл), после чего реакционную смесь фильтруют на стеклянном фильтре через слой силикагеля, фильтр промывают ЭА. Фильтрат концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система ПЭ:ЭА 8:1→3:1) из смеси выделяют чистый α-изомер **66** (670 мг, 0.44 ммоль, 89%).

 $[\alpha]_{D}$ =-107.8° (c=1, EtOAc).

MS-ESI C₈₆H₈₉ClO₂₃ [M+Na]⁺; вычисл.: 1547.5375, найдено: 1547.5370.

¹H ЯМР (600 МГц, CDCl₃): δ 0.99 (3H, d, *J*₅₋₆=6.5 Гц, H-6 (Fucp')), 1.04 (3H, d, *J*₅₋₆=6.4 Γц, H-6 (Fucf)), 1.16 (3H, d, *J*₅₋₆=6.5 Γц, H-6 (Fucp)), 3.53-3.57 (2H, m, H-2 (GlcA), CHH'Cl), 3.68 (1H, d, *J*=15.4 Γц, CHH'Cl), 3.86-3.90 (4H, m, H-5 (Fucf),

OMe), 3.96-4.05 (3H, m, H-3 (GlcA), H-4 (GlcA), H-4 (Fucf)), 4.05-4.08 (2H, m, H-2 (Fucf), OCHH'CH), 4.12 (1H, dd, $J_{1-2}=3.6 \Gamma \mu$, $J_{2-3}=10.1 \Gamma \mu$, H-2 (Fucp)), 4.19-4.26 (2H, m, H-5 (Fucp), OCHH'CH), 4.36 (1H, dd, $J_{1-2}=3.2 \Gamma \mu$, $J_{2-3}=10.6 \Gamma \mu$, H-2 (Fucp')), 4.47 (1H, dd, $J_{2-3}=10.2 \Gamma \mu$, $J_{3-4}=3.1 \Gamma \mu$, H-3 (Fucp)), 4.51-4.59 (6H, m, H-5 (Fucp'), CH₂Ph, 3xCHH'Ph), 4.64 (1H, d, $J=11.9 \Gamma \mu$, CHH'Ph), 4.70-4.74 (2H, m, H-5 (GlcA), CHH'Ph), 4.77-4.83 (3H, m, 3xCHH'Ph), 5.08 (1H, d, $J_{1-2}=3.6 \Gamma \mu$, H-1 (Fucp)), 5.24 (1H, d, $J_{1-2}=4.0 \Gamma \mu$, H-1 (GlcA)), 5.27 (1H, dd, $J=1.3 \Gamma \mu$, $J=10.4 \Gamma \mu$, CH₂CH=CHH'), 5.34 (1H, d, $J_{3-4}=3.3 \Gamma \mu$, H-4 (Fucp')), 5.38-5.40 (2H, m, H-1 (Fucf), CH₂CH=CHH'), 5.45 (1H, d, $J_{1-2}=3.2 \Gamma \mu$, H-1 (Fucp')), 5.61 (1H, dd, $J_{2-3}=10.7 \Gamma \mu$, $J_{3-4}=3.3 \Gamma \mu$, H-3 (Fucp')), 5.73 (1H, d, $J_{3-4}=3.0 \Gamma \mu$, H-4 (Fucp)), 5.83 (1H, t, $J=7.0 \Gamma \mu$, H-3 (Fucf)), 5.95-6.03 (1H, m, CH₂CH=CH₂), 7.13-7.64 (34H, 8xAr), 8.01 (2H, d, $J=8.0 \Gamma \mu$, Bz), 8.09 (2H, d, $J=8.0 \Gamma \mu$, o-Ph (Bz)), 8.25 (2H, d, $J=7.3 \Gamma \mu$, o-Ph (Bz)).

¹³C ЯМР (150.9 МГц, CDCl₃): δ 15.2 (C-6 (Fucf)), 15.6 (C-6 (Fucp')), 16.2 (C-6 (Fucp)), 40.5 (*C*H₂Cl), 52.7 (OMe), 64.8 (C-5 (Fucp')), 65.4 (C-5 (Fucp)), 68.5 (OCH₂CH), 70.6 (C-5 (GlcA)), 71.5 (*C*H₂Ph), 71.6 (C-4 (Fucp)), 71.9 (C-4 (Fucp')), *C*H₂Ph), 72.3 (C-3 (Fucp')), 72.5 (C-2 (Fucp')), 72.7 (*C*H₂Ph), 72.8 (*C*H₂Ph), 73.1 (C-3 (Fucp)), 75.0 (C-3 (Fucf), *C*H₂Ph), 75.5 (C-2 (Fucp)), 76.7 (C-4 (GlcA)), 77.0 (C-5 (Fucf)), 79.3 (C-2 (GlcA)), 80.0 (C-3 (GlcA)), 81.9 (C-2 (Fucf)), 82.5 (C-4 (Fucf)), 96.0 (C-1 (Fucp)), 96.7 (C-1 (Fucp')), 98.5 (C-1 (Fucf)), 100.5 (C-1 (GlcA)), 117.6 (CH₂CH=CH₂), 127-130 (Ar), 132.9 (Bz), 133.1 (Bz), 133.3 (Bz), 134.0 (CH₂CH=*C*H₂), 137.6 (Bn), 138.0 (Bn), 138.1 (Bn), 138.7 (Bn), 139.2 (Bn), 165.3 (*C*(O)Ph), 166.9 (*C*(O)Ph), 166.3 (*C*(O)CH₂Cl), 170.3 (C-6 (GlcA)).

Аллил-2-*О*-бензил-3-*О*-(2-*О*-[Метил (2,3-ди-*О*-бензил-4-*О*-(2,5-ди-*О*-бензил-3-*О*-бензоил-α-L-фукофуранозил)-α-D-глюкопиранозил) уронат]-4-*О*-бензоилα-L-фукопиранозил)-4-*О*-бензоил-α-L-фукопиранозид (67)



К раствору тетрасахарида **66** (670 мг, 0.44 ммоль) в метаноле (15 мл) добавляют навеску 10 экв тиомочевины (340 мг, 4.4 ммоль) и 3 экв коллидина (175 мкл, 1.3 ммоль). Реакция проходит при перемешивании и при t=60°C с использованием насадки-дефлегматора. Реакцию контролируют методом TCX (система Tol:ЭA 10:1, R_f =0.3). По окончании реакции (24 часа) реакционную смесь разбавляют этилацетатом (100 мл) и моют дистиллированной водой (2×150 мл). Органический слой отделяют, сушат над Na₂SO_{4(безв.)} и концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система ПЭ:ЭА 5:1→4:1) из смеси выделяют чистый продукт **67** (510 мг, 0.35 ммоль, 80%).

 $[\alpha]_{D}$ =-96.4° (c=1, EtOAc).

MS-ESI C₈₄H₈₈O₂₂ [M+Na]⁺; вычисл.: 1471.5659, найдено: 1471.5650.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): δ 0.99 (3H, d, J_{5-6} =6.3 Γц, H-6 (Fucf)), 1.03 (3H, d, J_{5-6} =6.4 Γц, H-6 (Fucp')), 1.23 (3H, d, J_{5-6} =6.4 Γц, H-6 (Fucp)), 3.49 (1H, dd, J_{1-2} =3.8 Γц, J_{2-3} =9.6 Γц, H-2 (GlcA)), 3.80-3.86 (4H, m, H-5 (Fucf), OMe), 3.87-3.94 (2H, m, H-4 (GlcA), H-2 (Fucp')), 3.96-4.08 (5H, m, H-2 (Fucf), H-4 (Fucf), H-2 (Fucp), H-3 (GlcA), OC*H*H'CH), 4.16-4.27 (3H, m, H-3 (Fucp'), H-5 (Fucp), OCH*H*'CH), 4.30-4.38 (2H, m, H-3 (Fucp), H-5 (Fucp)), 4.45-4.78 (10H, m, H-5 (GlcA), 4xCH₂Ph, C*H*H'Ph), 4.93-4.99 (3H, m, H-1 (GlcA), H-1 (Fucf), CH*H*'Ph), 5.19-5.25 (2H, m, H-4 (Fucp'), CH₂CH=C*H*H'), 5.31 (1H, d, J_{1-2} =3.2 Γц, H-1 (Fucp')), 5.33-5.39 (2H, m, H-1 (Fucp)), CH₂CH=C*H*H'), 5.72 (1H, d, J_{3-4} =2.9 Γц, H-4 (Fucp)), 5.76 (1H, t, J=6.9 Γц, H-3 (Fucf)), 5.88-5.99 (1H, m, CH₂C*H*=CH₂), 7.00-7.62 (34H, m, 8xAr), 7.97 (2H, d, J=7.1 Γц, *o*-Ph (Bz)), 8.10 (2H, d, J=7.1 Γц, *o*-Ph (Bz)), 8.21 (2H, d, J=7.0 Γц, *o*-Ph (Bz)).

¹³C ЯМР (100.6 МГц, CDCl₃): δ 15.2 (C-6 (Fucf)), 16.1 (C-6 (Fucp')), 16.2 (C-6 (Fucp)), 52.8 (OMe), 65.3 (C-5 (Fucp)), 65.6 (C-5 (Fucp')), 68.1 (C-3 (Fucp')), 68.7

(OCH₂CH), 70.8 (C-5 (GlcA)), 71.7 (CH₂Ph), 72.0 (CH₂Ph), 72.4 (C-4 (Fucp)), 73.0 (CH₂Ph), 74.0 (C-4 (Fucp')), 74.0 (CH₂Ph), 74.4 (C-3 (Fucp)), 75.1 (C-3 (Fucf)), 75.7 (CH₂Ph), 76.4 (C-2 (Fucp)), 77.1 (C-4 (GlcA)), 77.4 (C-5 (Fucf)), 78.8 (C-2 (GlcA)), 80.1 (C-2 (Fucp')), 80.9 (C-3 (GlcA)), 82.0 (C-4 (Fucf)), 82.7 (C-2 (Fucf)), 95.2 (C-1 (Fucf)), 98.0 (C-1 (Fucp')), 100.8 (C-1 (Fucp)), 101.0 (C-1 (GlcA)), 117.8 (CH₂CH=CH₂), 127-130 (8xAr), 132.1 (2xBz), 133.3 (Bz), 134.0 (CH₂CH=CH₂), 137.2 (Bn), 137.8 (Bn), 138.4 (Bn), 138.6 (Bn), 139.2 (Bn), 165.4 (C(O)Ph), 165.8 (C(O)Ph), 166.6 (C(O)Ph), 170.3 (C-6 (GlcA)).

Аллил-2-*O*-бензил-3-*O*-(2-*O*-[Метил (2,3-ди-*O*-бензил-4-*O*-(2,5-ди-*O*-бензил-3-*O*-бензоил-α-L-фукофуранозил)-α-D-глюкопиранозил) уронат]-3-*O*-(2-*O*бензил-3,4-ди-*O*-хлорацетил-α-L-фукопиранозил)-4-*O*-бензоил-α-Lфукопиранозил)-4-*O*-бензоил-α-L-фукопиранозид (68)



К раствору акцептора **67** (203 мг, 0.14 ммоль) и донора **17** (115 мг, 0.21 ммоль, 1.5 экв.) в абсолютном CH₂Cl₂ (5 мл) в атмосфере аргона прибавляют молекулярные сита MS-4Å (300 мг) (прокаленные при 200°С на вакууме в течение 2 часов), и перемешивают в течение 30 минут. Затем к реакционной смеси, охлажденной до -50°С с помощью ацетоновой бани, микрошприцом добавляют 0.5 экв. TMSOTf (5 мкл, 0.25 ммоль). Реакционную смесь выдерживают при постоянном перемешивании в интервале температур от -40°С до -20°С. Реакцию контролируют методом TCX (система Tol:ЭА 8:1, R_f =0.7). По окончании реакции (1 час) в реакционную смесь добавляют Et₃N (0.1 мл), после чего реакционную смесь фильтруют на стеклянном фильтре через слой силикагеля, фильтр промывают ЭА. Фильтрат концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система Tol:ЭA 20:1→10:1) из смеси выделяют продукт **68** (220 мг, 0.12 ммоль, 86%) в виде чистого α-изомера.

 $[\alpha]_{D}$ =-96.75° (c=1, EtOAc).

MS-ESI C₁₀₁H₁₀₆Cl₂O₂₈ [M+Na]⁺; вычисл.: 1859.6140, найдено: 1859.6200.

¹Н ЯМР (400 МГц, CDCl₃): δ 0.93 (3H, d, J_{5-6} =6.5 Гц, H-6 (Fucp')), 0.98 (3H, d, J₅₋₆=6.5 Гц, H-6 (Fucp'')), 1.08-1.12 (6H, m, H-6 (Fucp), H-6 (Fucf)), 3.60-3.72 (4H, m, H-2 (GlcA), H-2 (Fucp''), C(O)CH₂Cl), 3.79 (3H, s, OMe), 3.81 (1H, t, J=6.5 Гц, H-5 (Fucf)), 3.86-3.92 (2H, m, H-2 (Fucp), OCHH'CH), 3.95-4.07 (6H, m, H-3 (GlcA), H-4 (GlcA), H-2 (Fucf), H-4 (Fucf), C(O)CH₂Cl), 4.08-4.17 (5H, m, H-2 (Fucp'), H-5 (Fucp'), H-5 (Fucp), OCHH'CH, CHH'Ph), 4.30 (1H, m, H-3 (Fucp')), 4.33 (1H, m, H-3 (Fucp)), 4.33 (1H, d, J=12.5 Γц, CHH'Ph), 4.45-4.52 (3H, m, H-5 (Fucp''), 2xCHH'Ph), 4.54-4.59 (3H, m, H-5 (GlcA), CH₂Ph), 4.67-4.76 (2xCHH'Ph, 2xCHH'Ph), 4.88 (1H, d, J=10.2 Гц, CHH'Ph), 4.90 (1H, d, J₁₋₂=3.7 Гц, H-1 (Fucp)), 5.00 (1H, d, J=14.2 Гц, СН*H*'Ph), 5.02 (1H, d, *J*₁₋₂=3.9 Гц, H-1 (GlcA)), 5.10 (1H, d, *J*₃₋₄=3.3 Гц, H-4 (Fucp'')), 5.15-5.20 (2H, m, H-1 (Fucp''), CH₂CH=CHH'), 5.22 (1H, d, J₃₋₄=3.0 Гц, H-4 (Fucp')), 5.30 (1H, dd, J=1.6 Гц, J=17.2 Гц, CH₂CH=CHH'), 5.37 (1H, dd, J₂₋₃=10.4 Гц, J₃₋₄=3.4 Гц, H-3 (Fucp'')), 5.44 (1H, d, J₁₋₂=4.2 Гц, H-1 (Fucf)), 5.45 (1H, d, J₁₋₂=3.9 Гц, H-1 (Fucp')), 5.70 (1H, d, J₃₋₄=3.2 Γμ, H-4 (Fucp)), 5.78 (1H, t, J=6.8 Γμ, H-3 (Fucf)), 5.80-5.91 (1H, m, CH₂CH=CH₂), 7.00-7.50 (38H, m, 9xPh), 7.58 (1H, t, J=7.3 Γμ, p-Ph(Bz)), 7.96 (2H, d, J=7.1 Гц, o-Ph(Bz)), 7.98 (2H, d, J=7.1 Гц, o-Ph(Bz)), 8.16 (2H, d, J=7.1 *Γ*ц, *o*-Ph(Bz)).

¹³C ЯМР (100.6 МГц, CDCl₃): δ 15.3 (C-6 (Fucf)), 15.3 (C-6 (Fucp'')), 16.0 (C-6 (Fucp), C-6 (Fucp')), 40.4 (C(O)CH₂Cl), 40.5 (C(O)CH₂Cl), 52.8 (OMe), 64.0 (C-5 (Fucp'')), 64.9 (C-5 (Fucp)), 65.1 (C-5 (Fucp')), 68.6 (OCH₂CH), 69.5 (C-4 (Fucp')), 69.7 (C-3 (Fucp')), 71.0 (C-5 (GlcA)), 71.7 (CH₂Ph), 72.0 (C-3 (Fucp''), CH₂Ph), 72.2 (CH₂Ph), 72.4 (C-2 (Fucp'')), 72.7 (C-4 (Fucp), CH₂Ph), 73.5 (C-4 (Fucp'')), 73.9 (CH₂Ph), 74.0 (C-3 (Fucp)), 75.0 (C-3 (Fucf)), 75.1 (CH₂Ph), 76.0 (C-2 (Fucp')), 76.4 (C-2 (Fucp)), 76.6 (C-4 (GlcA)), 76.7 (C-5 (Fucf)), 78.7 (C-2 (GlcA)), 80.9 (C-3 (GlcA)), 82.0 (C-2 (Fucf)), 82.5 (C-4 (Fucf)), 92.3 (C-1 (Fucp'')), 95.9 (C-1 (Fucp)), 97.1 (C-1 (Fucp')), 99.5 (C-1 (GlcA)), 100.8 (C-1 (Fucf)), 117.7 (CH₂CH=CH₂), 127.0-130.3 (9xAr), 133.0 (Bz), 133.1 (Bz), 133.1 (Bz), 133.9 (CH₂CH=CH₂), 137.8 (Bn),
138.0 (Bn), 138.4 (Bn), 138.5 (Bn), 138.7 (Bn), 139.0 (Bn), 165.3 (*C*(O)Ph), 165.8 (*C*(O)Ph), 166.5 (*C*(O)CH₂Cl), 167.1 (*C*(O)CH₂Cl), 170.2 (C-6 (GlcA)).

Пропил-3-*O*-(2-*O*-[Натрия (4-*O*-(α-L-фукофуранозил)-α-Dглюкопиранозил) уронат]-3-*O*-(α-L-фукопиранозил)-α-L-фукопиранозил)-α-Lфукопиранозид (8)



К раствору пентасахарида **68** (27 мг, 0.014 ммоль) в метаноле (2 мл) и ЭА (2 мл) добавляют палладий на угле (30 мг), после чего колбу заполняют водородом. Реакционную смесь интенсивно перемешивают при комнатной температуре. Реакцию контролируют методом TCX (система ЭА). По окончании реакции (1 час) реакционную смесь фильтруют на стеклянном фильтре через слой силикагеля, затем концентрируют в вакууме. К раствору полученного продукта в метаноле (2 мл) прибавляют $2N_{(aq.)}$ NaOH (0.2 мл). Реакционную смесь выдерживают при комнатной температуре и перемешивании. По окончании реакции (18 часов) реакционную смесь концентрируют в вакууме, после чего растворяют в дистиллированной воде (1 мл), фильтруют через нейлоновый фильтр и наносят на гелевую колонку. Эксклюзионной хроматографией из смеси выделяют чистый продукт **8** (9.7 мг, 0.0115 ммоль, 82%).

 $[\alpha]_{D}$ =-77.3° (c=1, H₂O).

MS-ESI C₃₃H₅₅NaO₂₃ [M+H]⁺; вычисл.: 843.3105, найдено: 843.3108.

¹H ЯМР (600 МГц, D₂O): δ 1.00 (3H, t, J=7.4 Γц, CH₂CH₂CH₃), 1.28 (3H, d, J_{5-6} =6.6 Γц, H-6 (Fucp')), 1.30 (3H, d, J_{5-6} =6.4 Γц, H-6 (Fucf)), 1.31 (3H, d, J_{5-6} =6.5 Γц, H-6 (Fucp'')), 1.33 (3H, d, J_{5-6} =6.6 Γц, H-6 (Fucp)), 1.67-1.75 (2H, m, CH₂CH₂CH₃), 3.56-3.61 (1H, m, OC*H*H'CH₂), 3.63 (1H, t, J=9.5 Γц, H-4 (GlcA)), 3.68-3.74 (3H, m, H-2 (GlcA), H-4 (Fucf), OCH*H*'CH₂), 3.83-3.90 (3H, m, H-3 (GlcA), H-2 (Fucp''), H-4

(Fucp'')), 3.96-4.01 (2H, m, H-3 (Fucp''), H-5 (Fucf)), 4.03 (2H, br s, H-2 (Fucp), H-3 (Fucp)), 4.12-4.16 (4H, m, H-4 (Fucp), H-5 (Fucp), H-2 (Fucf), H-5 (GlcA)), 4.17-4.20 (2H, m, H-3 (Fucf), H-4 (Fucp')), 4.22 (1H, dd, J_{1-2} =3.8 Γ u, J_{2-3} =10.4 Γ u, H-2 (Fucp')), 4.34 (1H, dd, J_{2-3} =10.4 Γ u, J_{3-4} =3.0 Γ u, H-3 (Fucp')), 4.36 (1H, q, *J*=6.5 Γ u, H-5 (Fucp'')), 4.49 (1H, q, *J*=6.3 Γ u, H-5 (Fucp')), 4.99 (1H, br s, H-1 (Fucp)), 5.10 (1H, d, J_{1-2} =4.7 Γ u, H-1 (Fucf)), 5.21 (1H, d, J_{1-2} =3.9 Γ u, H-1 (Fucp'')), 5.32 (1H, d, J_{1-2} =4.0 Γ u, H-1 (GlcA)).

¹³C ЯМР (150.9 МГц, D₂O): δ 11.1 (CH₂CH₂CH₃), 16.5 (C-6 (Fucp'), C-6 (Fucp'')), 16.7 (C-6 (Fucp)), 19.7 (C-6 (Fucf)), 23.4 (CH₂CH₂CH₃), 67.5 (C-2 (Fucp)), 67.6 (C-5 (Fucp'')), 67.7 (C-5 (Fucp)), 68.2 (C-5 (Fucp')), 68.3 (C-4 (Fucp')), 68.4 (C-5 (Fucf)), 69.1 (C-4 (Fucp), C-2 (Fucp'')), 70.8 (C-3 (Fucp'')), 71.3 (OCH₂CH₂), 72.0 (C-2 (GlcA)), 72.4 (C-2 (Fucp')), 73.0 (C-3 (GlcA)), 73.1 (C-4 (Fucp'')), 73.2 (C-5 (GlcA)), 73.9 (C-3 (Fucp')), 75.3 (C-3 (Fucp)), 75.8 (C-3 (Fucf)), 77.6 (C-2 (Fucf)), 81.7 (C-4 (GlcA)), 86.2 (C-4 (Fucf)), 94.5 (C-1 (Fucp'')), 95.5 (C-1 (Fucp')), 99.5 (C-1 (Fucp)), 100.7 (C-1 (GlcA)), 103.4 (C-1 (Fucf)), 176.9 (C-6 (GlcA)).

Натриевая соль пропил-3-*O*-(2-*O*-[Натрия (4-*O*-(3-*O*-сульфо-α-Lфукофуранозил)-α-D-глюкопиранозил) уронат]-3-*O*-(3,4-ди-*O*-сульфо-α-Lфукопиранозил)-4-*O*-сульфо-α-L-фукопиранозил)-4-*O*-сульфо-α-Lфукопиранозид (10)



К раствору пентасахарида **68** (30 мг, 0.016 ммоль) в THF (2 мл) добавляют $2N_{(aq.)}$ LiOH (0.2 мл). Реакция проходит при комнатной температуре. Реакцию контролируют методом TCX (системы ПЭ:ЭА 1:1, DCM:MeOH 8:1). По окончании реакции (20 часов) в реакционную смесь добавляют Bu₄NOH (0.1 мл) и выдерживают реакционную смесь при комнатной температуре в течение еще 48

часов. Затем в раствор добавляют ионообменную смолу IR-120 в H^+ форме до рН~7, после чего фильтруют на стеклянном фильтре, затем фильтрат концентрируют в вакууме. Колоночной хроматографией (система DCM:MeOH 25:1→6:1) из смеси выделяют промежуточный пентаол, который затем растворяют в ДМФА (2 мл) и добавляют к раствору навеску Ру·SO₃ (140 мг, 0.88 ммоль). Реакционную смесь выдерживают в течение 3 часов при температуре 40°С. По окончании реакции в реакционную смесь добавляют 1M_(ад.) NaHCO₃ до pH=8-9, раствор концентрируют в вакууме. Промежуточный после чего продукт MeOH И очищают колоночной хроматографией экстрагируют (система DCM:MeOH 10:1 \rightarrow 1:1), после чего растворяют в системе THF (2 мл), EtOAc (0.5 мл), EtOH (0.4 мл) и добавляют якорь магнитной мешалки и навеску палладия на угле (40 мг), после чего колбу заполняют водородом. Реакционную смесь интенсивно перемешивают при комнатной температуре. Реакцию контролируют методом ТСХ (система DCM:MeOH 1:1). По окончании реакции (12 часов) реакционную смесь фильтруют через нейлоновый фильтр, концентрируют в вакууме, а затем растворяют в воде и наносят на гелевую колонку. Эксклюзионной хроматографией из смеси выделяют чистый продукт 10 (16.8 мг, 0.0124 ммоль, 76%).

 $[\alpha]_D = -87.7^{\circ} (c=1, H_2O).$

MS-ESI C₃₃H₅₁Na₃O₃₈S₅ [M-3Na+H]²⁻; вычисл.: 642.0183, найдено: 642.0159.

¹H ЯМР (600 МГц, D₂O): δ 1.03 (3H, t, J=7.4 Γц, CH₂CH₂CH₃), 1.34 (3H, d, $J_{5-6}=6.5$ Γц, H-6 (Fucf)), 1.38-1.44 (9H, m, H-6 (Fucp), H-6 (Fucp'), H-6 (Fucp'')), 1.71-1.78 (2H, m, CH₂CH₂CH₃), 3.58-3.63 (1H, m, OCHH'CH₂), 3.70 (1H, t, J=9.6 Γц, H-4 (GlcA)), 3.72-3.77 (1H, m, OCHH'CH₂), 3.80 (1H, dd, $J_{1-2}=2.9$ Гц, $J_{2-3}=9.7$ Гц, H-2 (GlcA)), 4.00 (1H, t, J=5.2 Гц, H-4 (Fucf)), 4.03-4.08 (2H, m, H-2 (Fucp), H-3 (GlcA)), 4.09-4.15 (2H, m, H-2 (Fucp'')), H-3 (Fucp)), 4.15-4.18 (1H, m, H-5 (Fucf)), 4.23 (1H, d, $J_{4-5}=9.2$ Гц, H-5 (GlcA)), 4.26-4.33 (2H, m, H-2 (Fucp')), H-5 (Fucp)), 4.42 (1H, t, J=5.4 Гц, H-2 (Fucf)), 4.56 (1H, q, $J_{5-6}=6.6$ Гц, H-5 (Fucp')), 4.60-4.66 (2H, m, H-3 (Fucp')), H-5 (Fucp')), 4.81-4.85 (2H, m, H-3 (Fucp'')), H-3 (Fucf)), 4.89 (1H, d, $J_{3-4}=2.7$ Гц, H-4 (Fucp)), 4.95 (1H, d, $J_{3-4}=2.7$ Гц, H-4 (Fucp'')), 4.99 (1H, d, $J_{3-4}=2.5$ Гц, H-4 (Fucp')), 5.03 (1H, d, $J_{1-2}=3.9$ Гц, H-1 (Fucp)), 5.25 (1H, d, $J_{1-2}=4.9$ Гц, H-1 (Fucf)), 5.36 (1H, d, J₁₋₂=3.0 Гц, H-1 (Fucp')), 5.47 (1H, br s, H-1 (GlcA)), 5.53 (1H, d, J₁₋₂=3.8 Гц, H-1 (Fucp'')).

¹³C ЯМР (150.9 МГц, D₂O): δ 11.1 (CH₂CH₂CH₃), 17.1 (C-6 (Fucp'')), 17.1 (C-6 (Fucp)), 17.3 (C-6 (Fucp')), 19.7 (C-6 (Fucf)), 23.2 (CH₂CH₂CH₃), 67.4 (C-2 (Fucp'')), 67.5 (C-5 (Fucp)), 67.9 (C-5 (Fucp')), 68.0 (C-5 (Fucf)), 68.1 (C-5 (Fucp'')), 68.7 (C-2 (Fucp)), 71.4 (OCH₂CH₂), 71.9 (C-3 (Fucp')), 72.4 (C-2 (GlcA)), 72.9 (C-2 (Fucp')), 73.0 (C-3 (GlcA), C-5 (GlcA)), 76.8 (C-3 (Fucp'')), 77.0 (C-2 (Fucf)), 77.9 (C-4 (Fucp')), 77.9 (C-3 (Fucp)), 80.5 (C-4 (Fucp)), 80.6 (C-4 (Fucp'')), 82.3 (C-4 (GlcA)), 84.0 (C-3 (Fucf)), 86.2 (C-4 (Fucf)), 94.5 (C-1 (Fucp'')), 99.1 (C-1 (Fucp')), 99.3 (C-1 (Fucp)), 100.3 (C-1 (GlcA)), 104.1 (C-1 (Fucf)), 177.0 (C-6 (GlcA)).

Натриевая соль пропил-2,4-ди-*О*-сульфо-3-*О*-(2-*О*-[Натрия (2,3-ди-*О*сульфо-4-*О*-(2,3,5-три-*О*-сульфо-α-L-фукофуранозил)-а-D-глюкопиранозил) уронат]-3-*О*-(2,3,4-три-*О*-сульфо-а-L-фукопиранозил)-4-*О*-сульфо-а-Lфукопиранозил)-а-L-фукопиранозид (9)



К раствору пентасахарида **10** (6 мг, 0.0044 ммоль) в ДМФА (2 мл) в атмосфере аргона добавляют навеску 90 экв. (10 экв. на ОН-группу) Ру·SO₃ (62 мг, 0.4 ммоль). Реакционную смесь выдерживают в течение 72 часов при температуре 2-6°С. По окончании реакции в реакционную смесь добавляют $1M_{(aq.)}$ NaHCO₃ до pH=8-9, после чего несколько раз соупаривают с дистиллированной водой. Эксклюзионной хроматографией выделяют чистый продукт **9** (7.3 мг, 0.0037 ммоль, 84%).

MS-ESI C₃₃H₄₄Na₁₀O₅₆S₁₁ [M-2Na]²⁻; вычисл.: 958.8255, найдено: 958.8242.

 $[\alpha]_D = -38.3^{\circ} (c=1, H_2O).$

¹Н ЯМР (600 МГц, D₂O): δ 0.93 (3H, t, J=7.3 Гц, CH₂CH₂CH₃), 1.25-1.34 (9H, m, H-6 (Fucp), H-6 (Fucp')), 1.49 (3H, d, J₅₋₆=6.5 Гц, H-6 (Fucf)), 1.60-1.68

(2H, m, CH₂CH₂CH₃), 3.50-3.57 (1H, m, OCHH'CH₂), 3.68-3.73 (1H, m, OCHH'CH₂), 4.12-4.17 (2H, m, H-2 (Fucp'), H-4 (Fucf)), 4.27 (1H, q, J_{5-6} =6.4 Γ u, H-5 (Fucp)), 4.38-4.54 (6H, m, H-5 (Fucp'), H-4 (GlcA), H-5 (Fucp''), H-2 (Fucp''), H-3 (Fucp'), H-2 (Fucp)), 4.59 (br s, H-2 (GlcA)), 4.65-4.71 (2H, m, H-3 (Fucp), H-4 (Fucp')), 4.74-4.81 (1H, m, H-5 (Fucf)), 4.85 (1H, d, J_{3-4} =3.0 Γ u, H-4 (Fucp'')), 4.86-4.89 (2H, m, H-5 (GlcA), H-2 (Fucf)), 4.91 (1H, d, J_{3-4} =3.1 Γ u, H-4 (Fucp)), 5.00-5.05 (2H, m, H-3 (GlcA), H-3 (Fucp'')), 5.19 (1H, t, J=3.9 Γ u, H-3 (Fucf)), 5.23 (1H, br s, H-1 (Fucp)), 5.39 (1H, br s, H-1 (Fucp')), 5.44-5.46 (2H, m, H-1 (GlcA), H-1 (Fucf)), 5.57 (1H, d, J_{1-2} =3.5 Γ u, H-1 (Fucp'')).

¹³C ЯМР (150.9 МГц, D₂O): δ 11.2 (CH₂CH₂CH₃), 16.9 (C-6 (Fucp), C-6 (Fucp'), C-6 (Fucp'')), 17.6 (C-6 (Fucf)), 23.0 (CH₂CH₂CH₃), 67.7 (C-5 (Fucp'), C-5 (Fucp'')), 68.4 (C-5 (Fucp)), 70.2 (C-2 (Fucp')), 71.4 (C-3 (Fucp), C-4 (Fucp')), 73.9 (C-3 (Fucp'')), 74.6 (C-2 (Fucp'')), 74.7 (C-3 (Fucp')), 75.0 (C-3 (GlcA)), 75.5 (C-4 (GlcA)), 76.6 (C-2 (Fucp)), 77.1 (C-5 (Fucf)), 77.5 (C-2 (GlcA)), 79.4 (C-3 (Fucf)), 79.9 (C-2 (Fucf)), 81.3 (C-5 (GlcA)), 82.9 (C-4 (Fucf)), 96.7 (C-1 (Fucp)), 97.1 (C-1 Fucp')), 97.8 (C-1 Fucp'')), 102.2 (C-1 (Fucf)), 102.5 (C-1 (GlcA)).

5.4. Расчет энергии стабилизации карбокатионов

Расчет энергий стабилизаций карбокатионов был выполнен методами молекулярной механики, как описано в работе [300]. Использовалась демонстрационная версия программы HyperChem 1.0 для ОС Linux. Применялось силовое поле MM+ с описанием электростатического взаимодействия в зарядзарядовом приближении. Атомные заряды были вычислены с помощью полуэмпирического приближения PM3 [301] методом одноточечных расчетов.

Начальные структуры для оптимизации геометрии были смоделированы следующим образом: для форм без стабилизации торсионные углы H3-C3-O3-CO заданы равными –40°, C3-O3-CO-O 0°, а H4-C4-O4-CO +40°, C4-O4-CO-O 0°. Для форм с предполагаемым соучастием карбонильной группы при *O*-3 угол H3-C3-O3-CO задан 180°, а для форм с предполагаемым соучастием карбонильной группы при *O*-4 угол H4-C4-O4-CO задан 180°, что приводило кислород соответствующей карбонильной группы в непосредственную близость от катионного центра. Геометрическая оптимизация производилась до достижения среднеквадратическим градиентом значения 0.01 ккал/моль•Å.

Энергии стабилизации были, затем, вычислены как разница в энергиях в парах оксокарбениевых ионов E(I)—E(II) и E(I)—E(III).

Расчеты выполнены сотрудником лаборатории №52 ИОХ РАН с.н.с., к.х.н. А. Г. Гербстом.

5.5. Исследование антикоагулянтной активности

Антикоагулянтная активность образцов поли- и олигосахаридов была изучена в тесте по увеличению активированного тромбопластинового времени (АЧТВ) с использованием коагулометра Coatron (Германия) и стандартных наборов реагентов (НПО «Ренам»). К 50 мкл нормальной плазмы добавляли 10 мкл раствора исследуемого вещества с концентрацией 1,5, 0,15, 0,075 и 0,038 мг/мл. Смесь инкубировали 2 минуты при 37°С, затем добавляли к ней 50 мкл реагента АЧТВ и выдерживали при 37°С 3 минуты. После этого к смеси добавляли 50 мкл 0,025М раствора CaCl₂ и регистрировали время формирования сгустка. Для каждой концентрации измерения проводили три раза, после чего рассчитывали среднее 2АЧТВ арифметическое значение и стандартное отклонение. Величины представлены в Таблице 7, а зависимость эффекта от концентрации отражена на Рисунке 68.

Часть 6.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. M. S. Pereira, B. Mulloy, P.A. Mourao, J. Biol. Chem., 1999, 274, 7656.
- T. Nagumo, T. Nishino, in *Polysaccharides in Medicinal Applications*, Ed. S. Dumitriu, Marcel Dekker, New York, 1996, p 545.
- A. Cumashi, N. A. Ushakova, M. E. Preobrazhenskaya, A. D'Incecco, A. Piccoli, L. Totani, N. Tinari, G. E. Morozevich, A. E. Berman, M. I. Bilan, A. I. Usov, N. E. Ustuzhanina, A. A. Grachev, C. J. Sanderson, M. Kelly, G.A. Rabinovich, S. Iacobelli, N.E. Nifantiev. *Glycobiology*, 2007, **17**, 541.
- 4. J.H. Fitton. Mar. Drugs, 2011, 9, 1731.
- 5. V.H. Pomin. Biochim. Biophys. Acta, 2012, 1820, 1971.
- 6. C. Granert, J. Raud, A. Waage, L. Lindquist, Infect. Immun., 1999, 67, 2071.
- L. A. Lasky, *Science*, 1992, **258**, 964; M. O. McClure, J. P. Moore, D. F. Blanc, P. Scotting, G. M. W. Cook, R. J. Keynes, J. N. Weber, D. Davies, R. A. Weiss, *AIDS Res. Hum. Retrovir.*, 1992, **8**, 19.
- D.O. Croci, A. Cumashi, N.A. Ushakova, M.E. Preobrazhenskaya, A. Piccoli, L. Totani, N.E. Ustyuzhanina, M.I. Bilan, A.I. Usov, A.A. Grachev, G.E. Morozevich, A.E. Berman, C.J. Sanderson, M. Kelly, P. Di Gregorio, C. Rossi, N. Tinari, S. Iacobelli, G.A. Rabinovich, N.E. Nifantiev. *PLoS ONE*, 2012, 6, e17283, doi:10.1371/journal.pone.0017283.
- M. I. Bilan, E. V. Vinogradova, E. A. Tsvetkova, A. A. Grachev, A. S. Shashkov, N. E. Nifantiev, A. I. Usov, *Carbohydr. Res.*, 2008, 343, 2605.
- V. P. Ananikov, E. A. Khokhlova., M. P. Egorov, A. M. Sakharov, S. G. Zlotin, A. V. Kucherov, L. M. Kustov, M. L. Gening, N. E. Nifantiev, *Mend. Commun.*, 2015, 25, 75, DOI: 10.1016/j.mencom.2015.03.001.
- <u>http://csdb.glycoscience.ru/bacterial/;</u> Ф. Тоукач, И. Бушмаринов, Ю. Книрель, Вестник МИТХТ, 2006, **4**, 59.
- (a) L. E. Franzen, P. Aman, A. G. Darvill, M. McNeil, P. Albersheim, *Carbohydr. Res.*, 1982, **108**, 129; (b) I. J. Colquhoun, V. J. Morris, I. W. Sutherland, *Carbohydr. Res.*, 1989, **187**, 103; (c) O. Guetta, M. Milas, M. Rinaudo, *Biomacromolecules*, 2003, **4**, 1372.

- 13. E. H. Merrifield, A. M. Stephen, Carbohydr. Res., 1981, 96, 113.
- 14. U. Elsasser-Beile, H. Friebolin, S. Stirm, Carbohydr. Res., 1978, 65, 245.
- 15. I. W. Sutherland, Biochemistry, 1970, 9, 2180.
- (a) Y. S. Ovodov, *Biochemistry*, 2006, **71**, 937; (b) H. Niemann, N. Frank, S. Stirm, *Carbohydr. Res.*, 1977, **59**, 165.
- H. Parolis, L. A. S. Parolis, D. V. Whittaker, *Carbohydr. Res.*, 1992, 231, 93; K. Nath, A. K. Chakraborty, *Carbohydr. Res.*, 1987, 161, 91.
- (a) S. Zamze, L. Martinez-Pomares, H. Jones, P. R. Taylor, R. J. Stillion, S. Gordon, S. Y. Wong, *J. Biol. Chem.*, 2002, **277**, 41613; (b) H. Sahly, Y. Keisari, E. Crouch, N. Sharon, I. Ofek, *Infection and Immunity*, 2008, **76**, 1322; (c) G. G. S. Dutton, T. E. Folkman, *Carbohydr. Res.*, 1980, **80**, 147; (d) G. G. S. Dutton, J. L. Di Fabio, D. M. Leek, E. H. Merrifield, J. R. Nunn, A. M. Stephen, *Carbohydr. Res.*, 1981, **97**, 127.
- 19. M. Beurret, M. Vignon, J. P. Joseleau, Carbohydr. Res., 1986, 157, 13.
- (a) A. S. Rao, J. Liao, E. A. Kabat, E. F. Osserman, M. Harboe, W. Nimmich, *J. Biol. Chem.*, 1984, **259**, 1018; (b) T. Fontaine, F. Talmont, G. G. S. Dutton, B. Fournet, *Anal. Biochem.*, 1991, **199**, 154; (d) Y. M. Choy, G. G. S. Dutton, *Can. J. Chem.*, 1973, **51**, 198; (e) G. G. S. Dutton, K. L. Mackie, A. V. Savage, D. Rieger-Hug, S. Stirm, *Carbohydr. Res.*, 1980, **84**, 161.
- Y. M. Choy, G. G. S. Dutton, A. M. Zanlungo, *Can. J. Chem.*, 1973, **51**, 1819; G. Annison, G. G. S. Dutton, P. K. Mandal, *Carbohydr. Res.*, 1988, **177**, 278.
- 22. J. L. Di Fabio, D. N. Karunaratne, G. G. S. Dutton, *Carbohydr. Res.*, 1985, 144, 251;
 J. Di Fabio, G. G. S. Dutton, *Carbohydr. Res.*, 1981, 92, 287.
- N. Ravenscroft, L. A. S. Parolis, H. Parolis, *Carbohydr. Res.*, 1994, 254, 333; B. Lindberg, F. Lindh, J. Lonngren, I. W. Sutherland, *Carbohydr. Res.*, 1979, 76, 281.
- 24. C. C. Cheng, S. L. Wong, Y. M. Choy, Carbohydr. Res., 1979, 73, 169.
- 25. B. Lindberg, F. Lindh, J. Lonngren, W. Nimmich, Carbohydr. Res., 1979, 70, 135.
- 26. G. G. S. Dutton, K. L. Mackie, Carbohydr. Res., 1977, 55, 49.
- A. K. Ray, A. Roy, N. Roy, *Carbohydr. Res.*, 1987, 165, 77; Y. Herasimenka, M. Benincasa, M. Mattiuzzo, P. Cescutti, R. Gennaro, R. Rizzo, *Peptides*, 2005, 26, 1127; P. Cescutti, R. Toffanin, B. J. Kvam, S. Paoletti, G. G. S. Dutton, *Eur. J. Biochem.*, 1993, 213, 445.

- K. Okutani, G. G. S. Dutton, *Carbohydr. Res.*, 1980, 86, 259; J. L. Di Fabio, G. G. S. Dutton, H. Parolis, *Carbohydr. Res.*, 1984, 133, 125.
- 29. E. Altman, G. G. S. Dutton, Carbohydr. Res., 1983, 118, 183.
- 30. A. K. Chakraborty, U. Dabrowski, G. Geyer, R. Geyer, S. Stirm, *Carbohydr. Res.*, 1982, **103**, 101.
- A. Dell, G. G. S. Dutton, P. E. Jansson, B. Lindberg, U. Lindquist, I W. Sutherland, *Carbohydr. Res.*, 1983, **122**, 340; C. Whitfield, M. A. Valvano, *Adv. Micr. Physiol.*, 1993, **35**, 135; G. G. S. Dutton, E. H. Merrifield, *Carbohydr. Res.*, 1982, **105**, 189.
- 32. A. S. Rao, N. Roy, W. Nimmich, Carbohydr. Res., 1978, 67, 449.
- 33. E. H. Merrifield, A. M. Stephen, *Carbohydr. Res.*, 1979, 74, 241; N. Ravenscroft, A. M. Stephen, E. H. Merrifield, *Carbohydr. Res.*, 1987, 167, 257; N. Ravenscroft, E. H. Merrifield, A. M. Stephen, *S. Afr. J. Sci.*, 1985, 81, 380.
- 34. P. L. Hackland, H. Parolis, L. A. S. Parolis, Carbohydr. Res., 1988, 172, 209.
- 35. G. G. S. Dutton, M. Paulin, Carbohydr. Res., 1980, 87, 119.
- 36. G. S. Dutton, D. N. Karunaratne, Carbohydr. Res., 1984, 134, 103.
- 37. B. Lindberg, W. Nimmich, Carbohydr. Res., 1976, 48, 81.
- 38. P. Edebrink, P. E. Jansson, G. Widmalm, Carbohydr. Res., 1993, 245, 311.
- S. Park S, A. R. Parameswar, A. V. Demchenko, M. H. Nahm, *Infection and Immunity*, 2009, 77, 3374; R. T. Cartee, W. T. Forsee, M. H. Bender, K. D. Ambrose, J. Yother, *J. Bacter.*, 2005, 187, 7425.
- 40. (a) M. Alpe, S. Oscarson, *Carbohydr. Res.*, 2003, **338**, 2605; (b) J. Kolberg, C. Jones, *FEMS Immun. Med. Microbiol.*, 1998, **20**, 249; (c) L. G. Bennett, C. T. Bishop, *Can. J. Chem.*, 1980, **58**, 2724; (d) T. J. Rutherford, C. Jones, D. B. Davies, A. C. Elliott, *Carbohydr. Res.*, 1994, **265**, 97.
- 41. J. C. Richards, M. B. Perry, Can. J. Biochem. Cell Biol., 1984, 62, 1309.
- 42. K. G. Rosell, H. J. Jennings, *Can. J. Biochem. Cell Biol.*, 1983, 61, 1102; C. Jones, B. Mulloy, A. Wilson, A. Dell, J. E. Oates, *J. Chem. Soc.*, *Perkin Transactions*, 1985, 1, 1665.
- 43. M. B. Perry, V. Daoust, D. J. Carlo, *Can. J. Biochem.*, 1981, 59, 524; T. J. Rutherford, C. Jones, D. B. Davies, A. C. Elliott, *Carbohydr. Res.*, 1991, 218, 175; S. van Selm, M. A. Kolkman, B. A. van der Zeijst, K. A. Zwaagstra, W. Gaastra, J. P.

van Putten, *Microbiol.*, 2002, **148**, 1747; B. Bednar, J. P. Hennessey, *Carbohydr. Res.*, 1993, **243**, 115.

- 44. J. J. Calix, J. S. Saad, A. M. Brady, M. H. Nahm, J. Biol. Chem., 2012, 287, 13996.
- 45. B. P. Chatterjee, S. Purkayastha, C. V. N. Rao, Ind. J. Chem., 1976, 14, 914.
- 46. M. Abeyta, G. G. Hardy, J. Yother, Infection and Immunity, 2003, 71, 218.
- 47. (a) C. M. Szymanski, F. S. Michael, H. C. Jarell, J. Li, M. Gilbert, S. Larocque, E. Vinogradov, J. R. Brisson, J. Biol. Chem., 2003, 278, 24509; (b) S. Bernatchez, C. M. Szymanski, N. Ishiyama, J. Li, H. C. Jarell, P. C. Lau, A. M. Berghius, N. M. Young, W. W. Wakarchuk, J. Biol. Chem., 2005, 280, 4792; (c) F. S. Michael, C. M. Szymanski, J. Li, K. H. Chan, N. H. Khieu, S. Larocque, W. W. Wakarchuk, J. R. Brisson, M. A. Monteiro, *Eur. J. Biochem.*, 2002, 269, 5119; (d) D. J. McNally, M. P. Lamoureux, A. V. Karlyshev, L. M. Fiori, J. Li, G. Thacker, R. A. Coleman, N. H. Khieu, B. W. Wren, J. R. Brisson, H. C. Jarrell, C. M. Szymanski, *J. Biol. Chem.*, 2007, 282, 28566; (e) M. B. Poulin, H. Nothaft, I. Hug, M. F. Feldman, C. M. Szymanski, T. L. Lowary, *J. Biol. Chem.*, 2010, 285, 493; (f) A. V. Karlyshev, O. L. Champion, C. Churcher, J. R. Brisson, H. C. Jarrell, M. Gilbert, D. Brochu, F. St-Michael, J. Li, W. W. Wakarchuk, I. Goodhead, M. Sanders, K. Stevens, B. White, J. Parkhill, B. W. Wren, C. M. Szymanski, *Molec. Microbiol.*, 2005, 55, 90.
- J. Muldoon, A. S. Shashkov, A. P. Moran, J. A. Ferris, S. N. Senchenkova, A. V. Savage, *Carbohydr. Res.*, 2002, 337, 2223; M. Kilcoyne, A. P. Moran, A. S. Shashkov, S. N. Senchenkova, J. A. Ferris, A. T. Corcoran, A. V. Savage, *FEMS Microbiol. Lett.*, 2006, 263, 214.
- 49. J. Kaštovský, J. R. Johansen, Phycologia, 2008, 47, 307.
- V. Gloaguen, H. Morvan, L. Hoffmann, Y. Plancke, J. Wieruszeski, G. Lippens, G. Strecker, *Eur. J. Biochem.*, 1999, **266**, 762; V. Gloaguen, J. M. Wieruszeski, G. Strecker, L. Hoffmann, H. Morvan, *Int. J. Biolog. Macromolec.*, 1995, **17**, 387.
- A. K. Chakraborty, Macromol. *Chem. Phys.*, 1982, **183**, 2881; K. Jann, B. Jann, K. F. Schneider, *Eur. J. Biochem.*, 1968, **5**, 456.
- 52. G. G. S. Dutton, A. Kuma-Mintah, H. Parolis, *Carbohydr. Res.*, 1990, **197**, 171.
- 53. G. Annison, G. G. S. Dutton, E. Altman, Carbohydr. Res., 1987, 168, 89.
- 54. P. L. Hackland, H. Parolis, Carbohydr. Res., 1992, 235, 211.
- 55. B. Jann, A. S. Shashkov, H. Kochanowski, K. Jann, Carbohydr. Res., 1995, 277, 353.

- Y. M. Choy, G. G. S. Dutton, M. R. Leslie, H. Parolis, L. A. S. Parolis, *Carbohydr. Res.*, 1995, 269, 295.
- 57. B. J. Anía, http://emedicine.medscape.com/article/228495
- 58. C. J. Brigden, S. G. Wilkinson, Carbohydr. Res., 1985, 138, 267.
- (a) H. M. Aucken, S. G. Wilkinson, T. L. Pitt, *Microbiology*, 1998, 144, 639; (b) D.
 Oxley, S. G. Wilkinson, *Carbohydr. Res.*, 1989, 187, 295.
- 60. D. Oxley, S. G. Wilkinson, Carbohydr. Res., 1990, 204, 85.
- (a) E. Vinogradov, L. Nossova, A. Korenevsky, T. J. Beveridge, *Carbohydr. Res.*, 2005, 340, 1750; (b) J. Kubler-Kielb, E. Vinogradov, H. Hu, S. H. Leppla, J. B. Robbins, R. Schneerson, *Proceed. Nat. Acad. Sci. USA*, 2008, 105, 8709; (c) E. L. Nazarenko, R. J. Crawford, E. P. Ivanova, *Marine Drugs*, 2011, 9, 1914.
- M. M. Rahman, J. Guard-Petter, K. Asokan, R. W. Carlson, *Carbohydr. Res.*, 1997, 301, 213.
- 63. E. Vinogradov, E. E. Egbosimba, M. B. Perry, J. S. Lam, C. W. Forsberg, *Eur. J. Biochem.*, 2001, **268**, 3566.
- 64. Н.В. Потехина, А.С. Шашков, С.Н. Сенченкова, Л.В. Дорофеева, Л.И. Евтушенко, *Биохимия*, 2012, 77, 1546 [N. V. Potekhina, A. S. Shashkov, S. N. Senchenkova, L. V. Dorofeeva, L. I. Evtushenko, *Biochem. (Moscow)*, 2012, 77, 1294].
- 65. N. K. Kochetkov, A. F. Sviridov, K. A. Arifkhodzhaev, O. S. Chizhov, A. S. Shashkov, *Carbohydr. Res.*, 1979, **71**, 193.
- M. A. Rodríguez-Carvajal, S. J. Ignacio, A. B. Campelo, B. Martinez, A. Rodriguez, A. M. Gil-Serrano, *Carbohydr. Res.*, 2008, 343, 3066.
- 67. J. C. Richards, Carbohydr. Polym., 1994, 25, 253.
- 68. R. Samson, J. B. Legendre, R. Christen, M. Fischer-Le Saux, W. Achouak, L. Gardan, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2005, 55, 1415.
- 69. B. Y. Yang, J. S. S. Gray, R. Montgomery, Int. J. Biol. Macromol., 1994, 16, 306.
- 70. Y. Chen, P. Bystricky, J. Adeyeye, P. Panigrahi, A. Ali, J. A. Johnson, C. A. Bush, J. G. Morris, O. C. Stine, *Microbiol.*, 2007, 7, 20.
- N. X. Yu, M. Hisamatsu, A. Amemura, T. Harada, *Agricul. Bio. Chem.*, 1983, 47, 491.

- 72. A. Choma, I. Komaniecka, A. Turska-Szewczuk, W. Danikiewicz, G. Spolnik, *Carbohydr. Res.*, 2012, **352**, 126.
- 73. (a) J. Kubler-Kielb, E. Vinogradov, T. Lagergård, A. Ginzberg, J. D. King, A. Preston, D. J. Maskell, V. Pozsgay, J. M. Keith, J. B. Robbins, R. Schneerson, Proceed. Nat. Acad. Sci. USA, 2011, 108, 4087; (b) B. R. Brodeur, D. Martin, J. Hamel, R. D. Shahin, C. Laferriere, Springer Seminars in Immunopathology, 1993, 15, 205; (с) Ю.А. Книрель, Н.К. Кочетков, Биохимия, 1993, 58, 182 [Y. A. Knirel, N. K. Kochetkov, Biochemistry (Moscow), 1993, 58, 84]; (d) J. Geurtsen, M. Dzieciatkowska, L. Steeghs, H. J. Hamstra, J. Boleij, K. Broen, G. Akkerman, H. El Hassan, J. Li, J. C. Richards, J. Tommassen, P. van der Ley, Infection and Immunity, 2009, 77, 2602; (e) S. Albitar-Nehme, S. M. Basheer, E. Njamkepo, J. R. Brisson, N. Guiso, M. Caroff, Carbohydr. Res., 2013, 378, 56; (f) S. Borrelli, P. E. Jansson, A. A. Lindberg, Microbial Pathogenesis, 1996, 21, 307; (g) H. J. Ahmed, A. Frisk, J. E. Månsson, E. K. H. Schweda, T. Lagergård, Infection and Immunity, 1997, 65, 3151; (h) S. Borrelli, E. L. Roggen, D. Hendriksen, J. Jonasson, H. J. Ahmed, P. Piot, P. Jansson, A. A. Lindberg, Infection and Immunity, 1995, 63, 2665; (i) S. Lebbar, M. Caroff, L. Szabó, C. Mérienne, L. Szilógyi, Carbohydr. Res., 1994, 259, 257; (j) J. H. Banoub, A. El Aneed, A. M. Cohen, N. Joly, Mass Spectrom. Rev., 2010, 29, 606; (k) M. Caroff, J. Brisson, A. Martin, D. Karibian, FEBS Letters, 2000, 477, 8.
- 74. J. Kubler-Kielb, E. Vinogradov, G. Ben Menachem, V. Pozsgay, J. B. Robbins, R. Schneerson, *Vaccine*, 2008, **26**, 3587; E. Vinogradov, J. D. King, A. K. Pathak, E. T. Harvill, A. Preston, *J. Biolog. Chem.*, 2010, **285**, 26869.
- E. Vinogradov, *Carbohydr. Res.*, 2007, **342**, 638; L. Aussel, R. Chaby, K. Le Blay, J. Kelly, P. E. Thibault, M. B. Perry, M. Caroff, *FEBS Letters*, 2000, **485**, 40.
- 76. E. Frirdich, E. Vinogradov, C. Whitfield, J. Biol. Chem., 2004, 279, 27928.
- 77. S. Carillo, G. Pieretti, B. Lindner, I. Romano, B. Nicolaus, R. Lanzetta, M. Parrilli, M. M. Corsaro, *Carbohydr. Res.*, 2013, 368, 61.
- 78. (a) N. Hashii, Y. Isshiki, T. Iguchi, S. Kondo, *Carbohydr. Res.*, 2003, 338, 1063; (b)
 N. C. R. Van Straten, N. M. A. J. Kriek, C. M. Timmers, S. C. M. Wigchert, G. A. van der Marel, J. H. van Boom, *J. Carb. Chem.*, 1997, 16, 947; (c) Y. A. Knirel, S. D. Shevelev, A. V. Perepelov, *Mendeleev Commun.*, 2011, 21, 173.
- 79. N. Hashii, Y. Isshiki, T. Iguchi, S. Kondo, Carbohydr. Res., 2003, 338, 2711.

- P. V. Salimath, R. N. Tharanathan, J. Weckesser, H. Mayer, *Eur. J. Biochem.*, 1984, 144, 227.
- 81. L. S. Forsberg, R. W. Carlson, J. Biol. Chem., 1998, 273, 2747.
- 82. K. J. Ojeda, L. Simonds, K. D. Noel, J. Bacteriol., 2013, 195, 1949.
- R. Russa, M. Bruneteau, A. S. Shashkov, T. Urbanik-Sypniewska, H. Mayer, Arch. Microbiol., 1996, 165, 26.
- M. M. Corsaro, G. Pieretti, B. Lindner, R. Lanzetta, E. Parrilli, M. L. Tutino, M. Parrilli, *Chem.: Eur. J.*, 2008, 14, 9368.
- 85. G. Pieretti, S. Carillo, B. Nicolaus, A. Poli, R. Lanzetta, M. Parrilli, M. M. Corsaro, *Org. Biomolec. Chem.*, 2010, **8**, 5404.
- C. De Castro, A. Molinaro, R. Lanzetta, A. Silipo, M Parrilli, *Carbohydr. Res.*, 2008, 343, 1924.
- E. Vinogradov, B. O. Petersen, I Sadovskaya, S. Jabbouri, J. Duus, I. M. Helander, *Eur. J. Biochem.*, 2003, 270, 3036.
- 88. K. J. Ojeda, J. M. Box, K. D. Noel, J. Bacteriol., 2010, 192, 679; L. S. Forsberg, R. W. Carlson, J. Biol. Chem., 2008, 283, 16037; K. D. Noel, J. M. Box, V. J. Bonne, Appl. Envir. Microbiol., 2004, 70, 1537; B. L. Ridley, B. S. Jeyaretnam, R. W. Carlson, Glycobiol., 2000, 10, 1013; K. D. Noel, L. S. Forsberg, R. W. Carlson, J. Bacteriol., 2000, 182, 5317; Д. С. Кабанов, И. Р. Прохоренко, Биохимия, 2010, 75, 469 [D. S. Kabanov, I. R. Prokhorenko, Biochemistry (Moscow), 2010, 75, 383]; A. Muszynski, M. Laus, J. W. Kijne, R. W. Carlson, Glycobiol., 2011, 21, 55; I. Lerouge, C. Verreth, J. Michiels, R. W. Carlson, A. Datta, M. Y. Gao, J. Vanderleyden, Molec. Plant-Microbe Interact., 2003, 16, 1085; L. S. Forsberg, K. D. Noel, J. Box, R. W. Carlson, J. Biol. Chem., 2003, 278, 51347; W. D'Haeze, C. Leoff, G. Freshour, K. D. Noel, R. W. Carlson, J. Biol. Chem., 2007, 282, 17101; D. M. Duelli, A. Tobin, J. M. Box, V. S. K. Kolli, R. W. Carlson, K. D. Noel, J. Bacteriol., 2001, 183, 6054; R. W. Carlson, L. S. Forsberg, E. L. Kannenberg, in Endotoxins: Structure, Function and Recognition, Ed. X. Wang, Xiaoyuan, P. J. Quinn, Springer, 2010, p. 339; L. S. Forsberg, U. R. Bhat, R. W. Carlson, J. Biol. Chem., 2000, 275, 18851.
- 89. (а) О. В. Быстрова, Г. В. Затонский, С. А. Борисова, Н. А. Кочарова, А. С. Шашков, Ю. А. Книрель, Е. В. Холодкова, Е. С. Станиславский, *Биохимия*,

2000, **65**, 795 [O. V. Bystrova, G. V. Zatonsky, S. A. Borisova, N. A. Kocharova, A. S. Shashkov, Y. A. Knirel, E. V. Kholodkova, E. S. Stanislavsky, *Biochemistry* (*Moscow*), 2000, **65**, 677]; (b) Y. A. Knirel, in *Bacterial lipopolysaccharides: Structure, chemical synthesis, biogenesis and interaction with host cells*, Ed. Y. A. Knirel, M. A. Valvano, Springer, Wien, 2011, p. 41.

- 90. О. Г. Овчинникова, А. Розальский, Б. Лью, Ю. А. Книрель, *Биохимия*, 2013, 78, 1023 [О. G. Ovchinnikova, A. Rozalski, B. Liu, Y. A. Knirel, *Biochemistry (Moscow)*, 2013, 78, 798].
- H. A. Кочарова, О. В. Щербакова, А. С. Шашков, Ю. А. Книрель, Н. К. Кочетков, Е. В. Холодкова, Е. С. Станиславский, *Биохимия*, 1997, **62**, 588 [N. A. Kocharova, O. V. Shcherbakova, A. S. Shashkov, Y. A. Knirel, N. K. Kochetkov, E. V. Kholodkova, E. S. Stanislavsky, *Biochemistry (Moscow)*, 1997, **62**, 501].
- O. G. Ovchinnikova, I. S. Bushmarinov, N. A. Kocharova, F. V. Toukach, M. Wykrota, A. S. Shashkov, Y. A. Knirel, A. Rozalski, *Carbohydr. Res.*, 2007, 342, 1116.
- O. G. Ovchinnikova, N. A. Kocharova, A. N. Kondakova, M. Bialczak-Kokot, A. S. Shashkov, Y.A. Knirel, A. Rozalski, *Carbohydr. Res.*, 2011, 346, 2638; O. G. Ovchinnikova, B. Liu, D. Guo, N.A. Kocharova, A. S. Shashkov, M. Chen, L. Feng, A. Rozalski, Y. A. Knirel, L. Wang, *Microbiology*, 2012, 158, 1024.
- 94. (a) А. В. Перепелов, С. Н. Снеченкова, А. С. Шашков, Ю. А. Книрель, Б. Лью, Л. Фенг, Л. Ванг, Биоорган. Химия, 2008, 34, 513 [А. V. Perepelov, S. N. Senchenkova, A. S. Shashkov, Y. A. Knirel, B. Liu, L. Feng, L. Wang, Rus. J. Bioorg. Chem., 2008, 34, 460]; (b) G. Guchhait, A. K. Misra, Glycoconjugate J., 2011, 28, 11; (c) B. Liu, Y. A. Knirel, L. Feng, A. V. Perepelov, S. N. Senchenkova, Q. Wang, P. Reeves, L. Wang, FEMS Microbiol. Rev., 2008, 32, 627; (d) A. V. Perepelov, B. Liu, S. N. Senchenkova, A. S. Shashkov, L. Feng, Y. A. Knirel, L. Wang, Carbohydr. Res., 2007, 342, 2676; (e) J. Rosen, A. Robobi, P. Nyholm, Carbohydr. Res., 2005, 340, 1059; (g) Б. А. Дмитриев, В. Л. Львов, Н. К. Кочетков, И. Л. Гофман, Биоорган. Химия, 1977, 3, 1226 [B. A. Dmitriev, V. L. L'vov, N. K. Kochetkov, I. L. Hofman, Bioorg. Chem. (Rus.), 1977, 3, 1226].
- 95. L. Wang, W. J. Qu, P. R. Reeves, Infection and Immunity, 2001. 69, 6923.

- B. A. Dmitriev, L. V. Backinowsky, V. L. L'vov, Y. A. Knirel, N. K. Kochetkov, N. A. Khomenko, *Carbohydr. Res.*, 1975, 41, 329.
- 97. (a) J. Tao, L. Feng, H. Guo, Y. Li, L. Wang, *FEMS Microbiol. Lett.*, 2004, 234, 125;
 (b) Ю. А. Книрель, Н. К. Кочетков, *Биохимия*, 1994, 59, 1784 [Y. A. Knirel, N. K. Kochetkov, *Biochemistry (Moscow)*, 1994, 59, 1325];
 (c) В. Л. Львов, А. П. Яковлев, А. С. Шашков, Б. А. Дмитриев, *Биоорган. Химия*, 1991, 17, 111 [V. L. L'vov, A. P. Yakovlev, A. S. Shashkov, B. A. Dmitriev, Bioorganicheskaya Khimiya, 1991, 17, 111].
- 98. R. Stenutz, A. Weintraub, G. Widmalm, FEMS Microbiol. Rev., 2006, 30, 382.
- A. V. Perepelov, Q. Wang, S. N. Senchenkova, L. Feng, A. S. Shashkov, L. Wang, Y. A. Knirel, *Carbohydr. Res.*, 2013, 368, 57.
- A. V. Perepelov, Q. Wang, S. N. Senchenkova, Y. Gong, A. S. Shashkov, L. Wang, Y. A. Knirel, *Carbohydr. Res.*, 2012, **353**, 106.
- 101. M. V. Svensson, A. Weintraub, G. Widmalm, Carbohydr. Res., 2011, 346, 449.
- А. Н. Кондакова, Ф. В. Тоукач, С. Н. Сенченкова, Н. П. Арбатский, А. С. Шашков, Ю. А. Книрель, К. Зук, А. Торжевска, К. Коложейска, А. Розальски, З. Сидорчук, *Биохимия*, 2002, **67**, 240 [A. N. Kondakova, F. V. Toukach, S. N. Senchenkova, N. P. Arbatsky, A. S. Shashkov, Y. A. Knirel, K. Zych, A. Torzewska, K. Kolodziejska, A. Rozalski, Z. Sidorczyk, *Biochemistry (Moscow)*, 2002, **67**, 201].
- 103. Y. A. Knirel, A. V. Perepelov, A. N. Kondakova, S. N. Senchenkova, Z. Sidorczyk, A. Rozalski, W. Kaca, *Innate Immunity*, 2011, **17**, 70.
- 104. M. Cedzynski, A. S. Swierzko, A. Ziolkowski, A. Rozalski, W. Kaca, N. A. Paramonov, E. V. Vinogradov, Y. A. Knirel, *Microbiol. Immun.*, 1998, **42**, 7.
- A. N. Kondakova, A. V. Perepelov, B. Bartodziejska, A. S. Shashkov, S. N. Senchenkova, M. Wykrota, Y. A. Knirel, A. Rozalski, *Carbohydr. Res.*, 2001, 333, 241.
- 106. Y. A. Knirel, E. V. Vinogradov, A. S. Shashkov, Z. Sidorczyk, A. Rozalski, I. Radziejewska-Lebrecht, W. Kaca, J. Carbohydr. Chem., 1993, 12, 379.
- L. M. Beynon, A. J. Dumanski, R. J. C. McLean, L. L. MacLean, J. C. Richards, M. B. Perry, *J. Bacteriol.*, 1992, **174**, 2172.
- 108. N. P. Arbatsky, A. S. Shashkov, G. Widmalm, Y. A. Knirel, K. Zych, Z. Sidorczyk, *Carbohydr. Res.*, 1997, **298**, 229.

- 109. A. K. Misra, N. Roy, *Carbohydr. Res.*, 1995, **278**, 103; L. C. Gahan, P. A. Sandford, H. E. Conrad, *Biochemistry*, 1967, **6**, 2755; A. Clements, F. Gaboriaud, J. F. Duval, J. L. Farn, A. W. Jenney, T. Lithgow, O. L. Wijburg, E. L. Hartland, R. A. Strugnell, *PLoS One*, 2008, **3**, e3817.
- S. K. Das, R. Ghosh, A. K. Ray, N. Roy, *Carbohydr. Res.*, 1994, 253, 301; S. K. Das, N. Roy, *J. Carbohydr. Chem.*, 1995, 14, 417.
- 111. M. M. Corsaro, C. De Castro, T. Naldi, M. Parrilli, J. M. Tomas, M. Regue, *Carbohydr. Res.*, 2005, **340**, 2212.
- 112. J. H. Pazur, L. S. Forsberg, Proceed. Intern. Symp. Glycoconjug., 1979, 1, 251.
- C. Abeygunawardana, T. C. Williams, J. S. Sumner, J. P. Hennessey, Anal. Biochem., 2000, 279, 226.
- W. Jachymek, C. Petersson, A. Helander, L. Kenne, C. Lugowski, T. Niedziela, *Carbohydr. Res.*, 1995, 269, 125.
- E. Katzenellenbogen, N. A. Kocharova, G. V. Zatonsky, A. S. Shashkov, M. Bogulska, Y. A. Knirel, *FEMS Immun. Med. Microbiol.*, 2005, 45, 269; D. Tichaczek-Goska, D. Witkowska, A. Cisowska, S. Jankowski, A. B. Hendrich, *Adv. Clinic. Experim. Med.*, 2012, 21, 289.
- S. Kondo, T. Watabe, Y. Haishima, K. Hisatsune, *Carbohydr. Res.*, 1993, 245, 353.
- 117. N. Bergstrom, G. B. Nair, A. Weintraub, P. Jansson, *Carbohydr. Res.*, 2002, 337, 813.
- 118. D. Turek, A. Sundgren, M. Lahmann, S. Oscarson, Org. Biomolec. Chem., 2006, 4, 1236.
- 119. B. Ruttens, P. Kovác, Carbohyd. Res., 2006, 341, 1177.
- M. Kilcoyne, A. V. Perepelov, S. V. Tomshich, N. A. Komandrova, A. S. Shashkov, L. A. Romanenko, Y. A. Knirel, A. V. Savage, *Carbohydr. Res.*, 2004, 339, 477.
- 121. E. P. Ivanova, L. A. Romanenko, J. Chun, M. H. Matte, G. R. Matte, V. V. Mikhailov, V. I. Svetashev, A. Huq, T. Maugel, R. R. Colwell, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2000, **50**, 901.

- 122. J. Muldoon, A. S. Shashkov, S. N. Senchenkova, S. V. Tomshich, N. A. Komandrova, L. A. Romanenko, Y. A. Knirel, A. V. Savage, *Carbohydr. Res.*, 2001, 330, 231.
- 123. R. Eserstam, C. Slater, P. Jansson, G. Widmalm, T. Rundlöf, S. G. Wilkinson, *Carbohydr. Res.*, 2000, **329**, 227.
- 124. D. Oxley, S. G. Wilkinson, Carbohydr. Res., 1991, 215, 293.
- 125. H. M. Aucken, S. G. Wilkinson, T. L. Pitt, FEMS Microbiol. Lett., 1996, 138, 77.
- E. L. Zdorovenko, L. D. Varbanets, G. V. Zatonsky, V. V. Kachala, G. M. Zdorovenko, A. S. Shashkov, Y. A. Knirel, *Carbohydr. Res.*, 2008, 343, 2494; L. D. Varbanets, L. B. Skoklyuk, E. L. Zdorovenko, V. V. Shubchynskyy, S. I. Pokhil, *Microbiology*, 2010, 79, 602; E. L. Zdorovenko, L. D. Varbanets, G. V. Zatonsky, G. M. Zdorovenko, A. S. Shashkov, Y. A. Knirel, *Carbohydr. Res.*, 2009, 344, 1259.
- 127. Y. Sun, M. Wang, Q. Wang, B. Cao, X. He, K. Li, L. Feng, L. Wang, Appl. Envir. *Microbiol.*, 2012, **78**, 3966; N. P. Arbatsky, M. Wang, A. S. Shashkov, L. Feng, Y. A. Knirel, L. Wang, *Carbohydr. Res.*, 2010, **345**, 2095.
- 128. A. S. Boyko, S. A. Konnova, Y. P. Fedonenko, E. L. Zdorovenko, O. N. Smol'kina, V. V. Kachala, V. V. Ignatov, *Microbiol. Res.*, 2011, 166, 585.
- J. Hoffman, J. Bogwald, R. Andersson, L. Kenne, *Carbohydr. Res.*, 2011, 347, 164.
- A. Preston, B. O. Petersen, J. O. Duus, J. Kuebler-Kielb, G. Ben Menachem, J. Li, E. Vinogradov, *J. Biol. Chem.*, 2006, **281**,18135.
- (a) S. Cérantola, A. Lemassu-Jacquier, H. Montrozier, *Eur. J. Biochem.*, 1999, 260, 373; (b) S. Cérantola, J. D. Bounery, C. Segonds, N. Marty, H. Montrozier, *FEMS Microbiol. Lett.*, 2000, 185, 243; (c) P. Cescutti, M. Foschiatti, L. Furlanis, C. Lagatolla, R. Rizzo, *Carbohydr. Res.*, 2010, 345, 1455; (d) P. Cescutti, G. Impallomeni, D. Garozzo, R. Rizzo, *Carbohydr. Res.*, 2011, 346, 2905; (e) A. Linker, L. R. Evans, G. Impallomeni, *Carbohydr. Res.*, 2001, 335, 45.
- B. Cuzzi, P. Cescutti, L. Furlanis, C. Lagatolla, L. Sturiale, D. Garozzo, R. Rizzo, *Innate Immunity*, 2012, 18, 661.
- L. F. Hallack, D. S. Passos, K. A. Mattos, O. A. Agrellos, C. Jones, L. Mendonça-Previato, J. O. Previato, A. R. Todeschini, *Glycobiology*, 2010, 20, 322.

- K. A. Mattos, C. Jones, N. Heise, J. O. Previato, L. Mendonça-Previato, *Eur. J. Biochem.*, 2001, 268, 3174.
- 135. P. Cescutti, B. Cuzzi, Y. Herasimenka, R. Rizzo, *Carbohydr. Polym.*, 2013, **94**, 253.
- L. Dantas, J. Courtois, B. Courtois, J. P. Seguin, C. Gey, A. Heyraud, *Carbohydr. Res.*, 1994, 265, 303; P. Michaud, J. Courtois, B. Courtois, A. Heyraud, P. Colin-Morel, J. P. Sequin, J. N. Barbotin, *Int. J. Biol. Macromol.*, 1994, 16, 301.
- 137. A. Amemura, M. Hisamatsu, S. K. Ghai, T. Harada, *Carbohydr. Res.*, 1981, **91**, 59.
- S. P. Djordjevic, H. Chen, M. Batley, J. W. Redmond, B. G. Rolfe, *J. Bacteriol.*, 1987, 169, 53; C. Staehelin, L. S. Forsberg, W. D'Haeze, M. Y. Gao, R. W. Carlson, Z. P. Xie, B. J. Pellock, K. M. Jones, G. C. Walker, W. R. Streit, W. J. Broughton, *J. Bacteriol.*, 2006, 188, 6168; S. P. Djordjevic, B. G. Rolfe, M. Batley, J. W. Redmond, *Carbohydr. Res.*, 1986, 148, 87.
- 139. M. C. Laus, T. J. Logman, A. A. Van Brussel, R. W. Carlson, P. Azadi, M. Y. Gao, J. W. Kijne, *J. Bacteriol.*, 2004, **186**, 6617; A. Gil-Serrano, I. Gonzalez-Jimenez, P. Tejero-Mateo, A. Sanchez del Junco, M. Megias, M. J. Romero-Vazquez, *Carbohydr. Res.*, 1992, **225**, 169.
- V. Crescenzi, M. Dentini, T. Coviello, S. Paoletti, A. Cesaro, F. Delben, *Gazz. Chim. Ital.*, 1987, **117**, 611.
- 141. B. Y. Yang, Q. Ding, R. Montgomery, Carbohydr. Res., 2003, 338, 2763.
- 142. J. S. S. Gray, J. M. Brand, T. A. W. Koerner, R. Montgomery, *Carbohydr. Res.*, 1993, **245**, 271; J. S. S. Gray, T. A. W. Koerner, R. Montgomery, *Carbohydr. Res.*, 1995, **266**, 153.
- 143. B. Y. Yang, Q. Ding, R. Montgomery, *Carbohydr. Res.*, 2002, **337**, 731.
- 144. Q. Ding, B. Y. Yang, R. Montgomery, Carbohydr. Res., 2004, 339, 2049.
- 145. A. R. W. Smith, R. A. Rastall, N. H. Rees, R. C. Hignett, R. Wait, *Acta Horticulture*, 1990, **273**, 211.
- H. Rougeaux, P. Talaga, R. W. Carlson, J. Guezennec, *Carbohydr. Res.*, 1998, 312, 53.
- 147. G. Dubreucq, B. Domon, B. Fournet, *Carbohydr. Res.*, 1996, **290**, 175.

- 148. M. Pillon, C. Pau-Roblot, V. LeQuart, S. Pilard, B. Courtois, J. Courtois, N. Pawlicki-Jullian, *Carbohydr. Res.*, 2010, **345**, 1163.
- 149. X. Xu, D. Ruan, Y. Jin, A. S. Shashkov, S. N. Senchenkova, M. Kilcoyne, A. V. Savage, L. Zhang, *Carbohydr. Res.*, 2004, **339**, 1631.
- P. Cescutti, R. Toffanin, W. F. Fett, S. F. Osman, P. Pollesello, S. Paoletti, *Eur. J. Biochem.*, 1998, **251**, 971.
- K. Tayama, H. Minakami, E. Entani, S. Fujiyama, H. Masai, Agricul. Biol. Chem., 1985, 49, 959.
- 152. M. Urai, H. Yoshizaki, H. Anzai, J. Ogihara, N. Iwabuchi, S. Harayama, M. Sunairi, M. Nakajima, *Carbohydr. Res.*, 2007, **342**, 927.
- 153. H. Fukui, M. Tanaka, A. Misaki, Agricul. Biol. Chem., 1985, 49, 2343.
- 154. Y. Isobe, K. Yokoigawa, H. Kawai, Y. Sone, *Biosci. Biotechn. Biochem.*, 1997, 61, 520.
- N. J. Otto, K. Solakyildirim, R. J. Linhardt, P. L. DeAngelis, *Glycobiology*, 2011, 21, 1331.
- 156. M. A. O'Neill, V. J. Morris, R. R. Selvendran, I. W. Sutherland, I. T. Taylor, *Carbohydr. Res.*, 1986, **148**, 63.
- 157. (a) K. Kawahara, H. Moll, Y. A. Knirel, U. Seydel, U. Zähringer, *Eur. J. Biochem.*, 2000, 267, 1837; (b) Y. Miyazaki, S. Oka, S. Yamaguchi, S. Mizuno, I. Yano, *J. Biochem.*, 1995, 118, 271; (c) H. Wiegandt, *Progr. Brain Res.*, 1994, 101, 63.
- S. Kawasaki, R. Moriguchi, K. Sekiya, T. Nakai, E. Ono, K. Kume, K. Kawahara, *J. Bacteriol.*, 1994, **176**, 284.
- 159. K. Kawahara, H. Moll, Y. A. Knirel, U. Seydel, U. Zähringer, *Carbohydr. Res.*, 2001, **331**, 87.
- S. G. Wilkinson, L. Galbraith, *Biochim. Biophys. Acta*, 1979, **575**, 244; S. Arata,
 T. Shiga, T. Mizutani, J. I. Mashimo, N. Kasai, L. Szabó, *Jap. J. Med. Sci. Biol.*, 1992, **45**, 273.
- 161. S. G. Wilkinson, Biochim. Biophys. Acta, 1969, 187, 492.
- 162. R. V. Tatituri, P. A. Illarionov, L. G. Dover, J. Nigou, M. Gilleron, P. Hitchen, K. Krumbach, H. R. Morris, N. Spencer, A. Dell, L. Eggeling, G. S. Besra, J. Biol. Chem., 2007, 282, 4561.

- B. A. Wolucka, M. R. McNeil, L. Kalbe, C. Cocito, P. J. Brennan, *Biochim. Biophys. Acta*, 1993, **1170**, 131.
- 164. I. Ishizuka, Prog. Lipid Res., 1997, 36, 245.
- 165. И. Б. Наумова, А. С. Шашков, Биохимия, 1997, 62, 809 [I. B. Naumova, A. S. Shashkov, Biochemistry (Moscow), 1997, 62, 947].
- 166. Y. Sasaki, N. Kojima, Y. Koike, Y. Araki, E. Ito, J. Biochem., 1986, 99, 713.
- 167. О. А. Степная, Е. А. Бегунова, И. М. Цфасман, Е. М. Тульская, Г. М. Стрещинская, И. Б. Наумова, И. С. Кулаев, *Микробиология*, 2004, **73**, 404 [О. А. Stepnaia, E. A. Begunova, I. M. Tsfasman, E. M. Tul'skaia, G. M. Streshinskaia, I. B. Naumova, I. S. Kulaev, *Microbiology (Engl. Transl.)*, 2004, **73**, 479].
- 168. J. A. Ferreira, M. R. Domingues, A. Reis, C. Figueiredo, M. A. Monteiro, M. A. Coimbra, *Carbohydr. Res.*, 2011, 346, 638.
- 169. E. Vinogradov, M. B. Perry, W. W. Kay, Carbohydr. Res., 2003, 338, 2653.
- 170. R. Bhatnagar, N. Banerjee, H. C. Srivastava, K. A. Prabhu, *Carbohydr. Res.*, 1981, 89, 346.
- R. F. Helm, Z. Huang, D. Edwards, H. Leeson, W. Peery, M. Potts, *J. Bacteriol.*, 2000, **182**, 974.
- 172. T. J. Painter, in *The Polysaccharides*, Ed. G. O. Aspinall, Academic, San Diego, 1983, p. 196.
- 173. T. E. Timell, Adv. Carbohydr. Chem., 1964, 19, 247.
- 174. R. J. McIlroy, G. S. Holmes, R. P. Mauger, J. Chem. Soc., 1945, 796
- 175. S. K. Chanda, E. L. Hirst, E. G. V. Percival, J. Chem. Soc., 1951, 1240.
- 176. G. A. Adams, Can. J. Chem., 1952, 30, 698; C. T. Bishop, Can. J. Chem., 1953, 31, 134.
- 177. R. L. Whistler, L. Hough, J. Am. Chem. Soc., 1953, 75, 4918; R. L. Whistler, H. E.
 Conrad, L. Hough, J. Am. Chem. Soc., 1954, 76, 1668.
- 178. J. K. N. Jones, L. E. Wise, J. Chem. Soc., 1952, 2750; J. K. N. Jones, L. E. Wise, J. Chem. Soc., 1952, 3389.
- 179. A. R. N. Gorrod, J. K. N. Jones, J. Chem. Soc., 1954, 2522.
- 180. J. Saarnio, K. Wathen, C. Gustafsson, Acta Chem. Scand., 1954, 8, 825.
- 181. E. V. White, J. Am. Chem. Soc., 1954, 76, 4906.
- 182. L. E. Wise, J. Pickard, *Tappi*, 1955, **38**, 618.

- 183. E. L. Falconer, G. A. Adams, Can. J. Chem., 1956, 34, 338.
- 184. R. Montgomery, F. Smith, H. C. Srivastava, J. Am. Chem. Soc., 1956, 78, 2837.
- 185. G. A. Adams, C. T. Bishop, J. Am. Chem. Soc., 1956, 78, 2842.
- 186. D. J. Brasch, L. E. Louis, *Tappi*, 1956, **39**, 768.
- 187. P. A. J. Gorin, Can. J. Chem., 1957, 35, 595.
- 188. J. K. Hamilton, N. S. Thompson, J. Am. Chem. Soc., 1957, 79, 6464.
- 189. J. K. N. Jones, T. J. Painter, J. Chem. Soc., 1957, 669.
- 190. J. K. Gillham, T. E. Timell, *Can. J. Chem.*, 1958, **36**, 410; J. K. Gillham, T. E. Timell, *Can. J. Chem.*, 1958, **36**, 1467.
- 191. A. Roudier, L. Eberhard, Compt. Rend., 1958, 247, 1505.
- 192. R. L. Whistler, G. N. Richards, J. Am. Chem. Soc., 1958, 80, 4888.
- 193. G. G. S. Dutton, K. Hunt, J. Am. Chem. Soc., 1958, 80, 4420.
- 194. F. W. Barth, T. E. Timell, J. Am. Chem. Soc., 1958, 80, 6320.
- 195. G. O. Aspinall, P. C. Das Gupta, J. Chem. Soc., 1958, 3627.
- 196. G. G. S. Dutton, I. H. Rogers, J. Am. Chem. Soc., 1959, 81, 2413.
- 197. H. C. Srivastava, G. A. Adams, J. Am. Chem. Soc., 1959, 81, 2409.
- 198. H. C. Srivastava, C. T. Bishop, G. A. Adams, J. Org. Chem., 1961, 26, 3958.
- 199. A. L. Currie, T. E. Timell, Can. J. Chem., 1959, 37, 922.
- 200. T. E. Timell, Can. J. Chem., 1959, 37, 893.
- 201. G. A. Adams, Can. J. Chem., 1959, 37, 29.
- 202. A. Roudier, Compt. Rend., 1959, 248, 1432.
- 203. A. J. Mian, T. E. Timell, *Tappi*, 1960, **43**, 775.
- 204. A. J. Mian, T. E. Timell, Svensk Papperstidning, 1960, 63, 769.
- 205. G. A. Adams, Can. J. Chem., 1960, 38, 2402.
- 206. D. V. Myhre, F. Smith, J. Agric. Food Chem., 1960, 8, 359.
- 207. G. G. S. Dutton, S. A. McKelvey, Can. J. Chem., 1961, 39, 2582.
- 208. J. K. N. Jones, C. B. Purves, T. E. Timell, *Can. J. Chem.*, 1961, **39**, 1059.
- 209. S. Machida, S. Nishikori, Bull. Chem. Soc. Jap., 1961, 34, 916.
- 210. T. E. Timell, Act. Chem. Scand., 1962, 16, 1027.
- 211. T. E. Timell, Can. J. Chem., 1962, 40, 22.
- 212. N. Banerji, V. L. N. Murty, A. K. Mukherjee, Ind. J. Chem., 1965, 3, 457.
- 213. J. M. Tyler, J. Chem. Soc., 1965, 5288.

- 214. I. Bremner, K. C. B. Wilkie, Carbohydr. Res., 1966, 2, 24.
- P. F. Nelson, O. Samuelson, Svensk Papperstidning, 1968, 71, 325; P. F. Nelson, Svensk Papperstidning, 1968, 71, 369.
- A. Ebringerova, A. Kramar, *Chem. Techn.*, 1968, 2, 67; A. Ebringerova, A. Kramar, R. Domansky, *Holzforschung*, 1969, 23, 89.
- 217. K. Larsson, O. Samuelson, Carbohydr. Res., 1969, 11, 144.
- 218. G. G. S. Dutton, N. A. Funnell, Can. J. Chem., 1973, 51, 3190.
- 219. M. Sinner, H. H. Dietrichs, M. H. Simatupang, Holzforschung, 1972, 26, 218.
- 220. G. G. S. Dutton, S. Kabir, *Carbohydr. Res.*, 1973, 28, 187.
- 221. E. Maekawa, K. Kitao, Agricul. Biolog. Chem., 1973, 37, 2073.
- 222. F. Barnoud, G. G. S. Dutton, J.-P. Joseleau, Carbohydr. Res., 1973, 27, 215.
- 223. J. Comtat, J.-P. Joseleau, C. Bosso, F. Barnoud, Carbohydr. Res., 1974, 38, 217.
- 224. J. B. Chaves Corrêa, S. L. Gomes, M. Gebara, Carbohydr. Res., 1978, 60, 337.
- 225. K. Mopper, K. Larsson, Geochim. Cosmochim. Acta, 1978, 42, 153.
- 226. S. Umashankar, Carbohydr. Res., 1981, 97, 323.
- 227. S. Umashankar, A. K. Mukherjee, Carbohydr. Res., 1982, 105, 247.
- 228. F. Cavagna, H. Deger, J. Puls, Carbohydr. Res., 1984, 129, 1.
- 229. F. Saavedra, Š. Karácsonyi, J. Alföldi, Carbohydr. Res., 1988, 180, 61.
- 230. T. S. Raju, D. C. Gowda, Y. V. Anjaneyalu, Carbohydr. Res., 1989, 191, 333.
- S. Yoshida, I. Kusakabe, N. Matsuo, K. Shimizu, T. Yasui, K. Murakami, *Agricul. Biolog. Chem.*, 1990, 54, 449.
- 232. S. Yoshida, I. Kusakabe, N. Matsuo, T. Ono, K. Shimizu, T. Yasui, K. Murakami, *Agricul. Biolog. Chem.*, 1990, **54**, 1319.
- 233. N. Matsuo, S. Yoshida, I. Kusakabe, K. Murakami, *Agricul. Biolog. Chem.*, 1991, 55, 2905.
- T. Watanabe, Y. Kato, T. Kanari, T. Okazaki, *Agricul. Biolog. Chem.*, 1991, 55, 1139.
- 235. A. Bazus, L. Rigal, A. Gaset, T. Fontaine, J.-M. Wieruszeski, B. Fournet, *Carbohydr. Res.*, 1993, **243**, 323.
- 236. K.-Y. Lin, J. R. Daniel, R. L. Whistler, *Carbohydr. Polym.*, 1994, 23, 13.
- J. M. Igartuburu, E. Pando, F. Rodríguez-Luis, A. Gil-Serrano, J. Nat. Prod., 1998, 61, 881.

- 238. M. A Verbruggen, B. A Spronk, H. A Schols, G. Beldman, A. G. J. Voragen, J. R Thomas, J. P. Kamerling, J. F. G. Vliegenthart, *Carbohydr. Res.*, 1998, **306**, 265.
- F. F. Simas, J. Maurer-Menestrina, R. A. Reis, G. L. Sassaki, M. Iacomini, P. A. J. Gorin, *Carbohydr. Polym.*, 2006, 63, 30.
- 240. F. F. Simas, P. A. J. Gorin, M. Guerrini, A. Naggi, G. L. Sassaki, C. L. Delgobo, M. Iacomini, *Phytochemistry*, 2004, 65 2347.
- C. Moine, P. Krausz, V. Chaleix, O. Sainte-Catherine, M. Kraemer, V. Gloaguen, J. Nat. Prod., 2007, 70, 60; A. Barbat, V. Gloaguen, C. Moine, O. Sainte-Catherine, M. Kraemer, H. Rogniaux, D. Ropartz, P. Krausz, J. Nat. Prod., 2008, 71, 1404.
- 242. H. Togashi, A. Kato, K. Shimizu, Carbohydr. Polym., 2009, 78, 247.
- 243. Q. Guo, S. W. Cui, Q. Wang, X. Hu, Y. Wu, J. Kang, R. Yada, *Carbohydr. Polym.*, 2011, **86**, 742.
- 244. J.-L. Hu, S.-P. Nie, C. Li, M.-Y. Xie, J. Biolog. Macromol., 2013, 54, 264.
- 245. D. Reis, B. Vian, J.-C. Roland, *Micron*, 1994, 25, 171.
- 246. A. Ebringerova, T. Heinze, *Macromol. Rapid Commun.*, 2000, 21, 542.
- 247. G. G. S. Dutton, Can. J. Chem., 1956, 34, 406.
- 248. F. G. Torto, J. Chem. Soc., 1961, 3166.
- 249. D. M. W. Anderson, K. A. Karamalla, Carbohydr. Res., 1966, 2, 403.
- 250. J. Heaney-Kieras, D. J. Chapman, Carbohydr. Res., 1976, 52, 169.
- 251. M. Jaseja, A. S. Perlin, O. Dubinsky, D. Christiaen, S. Arad, R. Glaser, *Carbohydr. Res.*, 1989, **186**, 313.
- 252. S. Geresh, O. Dubinsky, S. Arad, D. Christiaen, R. Glaser, *Carbohydr. Res.*, 1990, 208, 301.
- 253. S. Guha, S. Basu, C. V. N. Rao, Ind. J. Chem., Sect. B, 1985, 24B, 171.
- 254. Z. A. Popper, I. H. Sadler, S. C. Fry, *Phytochemistry*, 2003, 64, 325.
- 255. M. Nagaoka, H. Shibata, I. Kimura-Takagi, S. Hashimoto, K. Kimura, T. Makino, R. Aiyama, S. Ueyama, T. Yokokura, *Glycoconjugate J.*, 1999, 16, 19; M. Tako, E. Yoza, S. Tohma, *Bot. Mar.*, 2000, 43, 393.
- 256. G. Jiao, G. Yu, J. Zhang, S. Ewart. Mar. Drugs, 2011, 9, 196 (2011).
- 257. (a) V. H. Pomin, *Biochim. Biopys. Acta*, 2012, **1820**, 1971; J. H. Fitton, *Mar. Drugs*, 2011, **9**, 1731; (b) Ustyuzhanina N.E., Bilan M.I., Ushakova N.A., Usov A.I., Kiselevskiy M.V., Nifantiev N.E. *Glycobiology*, 2014, **24**, 1265; (c) B. A. Cumashi,

N.A., Ushakova, M.E. Preobrazhenskaya, A.D'Incecco, A. Piccoli, L. Totani, N. Tinari, G.E. Morozevich, A.E. Berman, M.I. Bilan, A.I. Usov, N.E. Ustuzhanina, A.A. Grachev, C.J. Sanderson, M. Kelly, G.A. Rabinovich, S. Iacobelli, and N.E. Nifantiev, *Glycobiology*, 2007, **17**, 541; (d) V. B. Krylov, Z.M. Kaskova, D. Z. Vinnitskiy, N.E. Ustyuzhanina, A.A. Grachev, A.O. Chizhov, N.E. Nifantiev *Carbohydr. Res.* 2011, **346**, 540.

- 258. P. Andrews, J. K. N. Jones, J. Chem. Soc., 1954, 1724.
- 259. S. F. Stoddart, J. K. N. Jones, Carbohydr. Res., 1968, 8, 29.
- 260. E. L. Hirst, E. Percival, R. S. Williams, J. Chem. Soc., 1958, 1942.
- 261. R. C. White, G. A. Barber, Biochim. Biophys. Acta, Gen. Subj., 1972, 264, 117.
- 262. K. Ogawa, M. Yamaura, Y. Ikeda, S. Kondo, *Biosci. Biotechn. Biochem.*, 1998, 62, 2030.
- 263. K. Ogawa, Y. Ikeda, S. Kondo, *Carbohydr. Res.*, 1999, **321**, 128.
- 264. C. K. Smith, C. M. Hewage, S. C. Fry, I. H. Sadler, *Phytochemistry*, 1999, **52**, 387.
- 265. C. K. Smith, S. C. Fry, Planta, 1999, 210, 150.
- 266. P. N. Banerjee, S. Bhatt, Nat. Prod. Res., 2007, 21, 507.
- 267. M. Bokern, S. Heuer, V. Wray, L. Witte, T. Macek, T. Vanek, D. Strack, *Phytochemistry*, 1991, **30**, 3261.
- 268. W. Eichenberger, C. Gribi, J. Plant Physiol., 1994, 144, 272.
- A. Maggi, R. Taskova, C. H. Gotfredsen, A. Bianco, S. R. Jensen, *Biochem. Systemat. Ecol.*, 2009, 37, 731.
- W.-H. Cai, K. Matsunami, H. Otsuka, T. Shinzato, Y. Takeda, *J. Nat. Med.*, 2011, 65, 364.
- 271. Z. Jia, K. Koike, T. Nikaido, T. Ohmoto, *Tetrahedron*, 1994, **50**, 11853.
- 272. G. Michl, D. Abebe, F. Bucar, A. Debella, O. Kunert, M. G. Schmid, E. Mulatu, E. Haslinger, *Helv. Chim. Acta*, 2000, 83, 359.
- 273. Z.-F. Zheng, J.-F. Xu, Z.-M. Feng, P.-C. Zhang, J. Asian Nat. Prod. Res., 2008, 10, 833.
- 274. H.-F. Tang, J. Yun, H.-W. Lin, X.-L. Chen, X.-J. Wang, G. Cheng, *Chem. Biodiversity*, 2009, **6**, 1443.
- 275. V. Bulatović, M. Gorunović, Pharmac. Acta Helv., 1995, 70, 219.

- 276. J. Zhang, Q. Shen, J.-C. Lu, J.-Y. Li, W.-Y. Liu, J.-J. Yang, J. Li, K. Xiao, *Food Chem.*, 2010, **119**, 1491.
- M. Huang, G. Zeng, J. Tan, Y. Li, G. Tan, Y. Zhou, *Zhongguo Zhongyao Zazhi*, 2008, **33**, 1700.
- 278. F. Fussi, Boll. Chim. Farmac., 1979, 118, 647.
- 279. R. M. Roberts, J. J. Cetorelli, in *Biogenesis of Plant Cell Wall Polysaccharides*, Ed. F. A. Loewus, Academic press, New York-London, 1973, p. 49.
- 280. C. L. Linster; E. Van Schaftingen, The FEBS Journal, 2007, 274, 1.
- 281. B. Yu, X. Zhu, Y. Hui, Org. lett., 2000, 2,.2539; B. Yu, X. Zhu, Y. Hui, *Tetrahedron*, 2001, 57, 9403; M.-H. Gouy, M. Danel, M. Gayral, A. Bouchu, Y. Queneau, Yves, *Carbohydr. Res.*, 2007, 342, 2303; B. Cao, X. Chen, Y. Yamaryo-Botte, M. B. Richardson, K. L. Martin, G. N. Khairallah, T. W. T. Rupasinghe, R. M. O'Flaherty, R. A. J. O'Hair, J. E. Ralton, P. K. Crellin, R. L. Coppel, M. J. McConville, S. J. Williams, J. Org. Chem., 2013, 78, 2175.
- 282. (a) N. S. Zlotina, N. E. Ustyuzhanina, A. A. Grachev, A. G. Gerbst, N. E. Nifantiev, *J. Carbohydr. Chem.*, 2008, 27, 429; (b) N. Ustyuzhanina, B. Komarova, N. Zlotina, V. Krylov, A. Gerbst, Y. Tsvetkov, N. Nifantiev, *Synlett*, 2006, 6, 921.
- N. Ustyuzhanina, V. Krylov, A. Grachev, A. Gerbst, N. Nifantiev, *Synthesis*, 2006, 23, 4017.
- 284. D. Lee, M. S. Taylor, J. Am. Chem. Soc., 2011, 133, 3724.
- R. Takano, T. Kanda, K. Hayashi, K. Yoshida, S. Hara, *J. Carbohydr. Chem.*, 1995, **14**, 885.
- 286. T. S. Stewart, P. B. Mendershausen, C. E. Ballou, Biochemistry, 1968, 7, 1843.
- 287. A. I. Usov, K. S. Adamyants, L. I. Miroshnikova, A. A. Shaposhnikova, N. K. Kochetkov, *Carbohydr. Res.*, 1971, 18, 336.
- 288. S. Laval, W. Liu, M. Mace, P. Fornarelli, A. Alix, D. Bonnaffe, 17th European Carbohydrate Sympoisium, 2013, 75.
- 289. А. Гордон, Р. Форд, Спутник химика, Москва, из-во "Мир" (1976).
- 290. W. L. F. Armarego, Christina Li Lin Chai. *Purification of laboratory chemicals*, 5-th edition, Elsevier, Cornwall (2003).
- P. A. Belyakov, V. I. Kadentsev, A. O. Chizhov, N. G. Kolotyrkina, A. S. Shashkov, V. P. Ananikov, *Mendeleev Commun.*, 2010, 20, 125.

- 292. M. Farrell, J. Zhou, P. V. Murphy, Chem. Eur. J., 2013, 19, 14836.
- 293. A. Pews-Davtyan, A. Pirojan, I. Shaljyan, A. A. Awetissjan, H. Reinke, C. Vogel, *J. Carbohydr. Chem.*, 2003, **22**, 939.
- 294. F. Sugawara, H. Nakayama, G. A. Strobel, T. Ogawa, *Agric. Biol. Chem.*, 1986, 50, 2251.
- 295. N. E. Ustyuzhanina, P. A. Fomitskaya, A. G. Gerbst, A. S. Dmitrenok, N. E. Nifantiev, *Mar. Drugs*, 2015, **13**, 770.
- 296. A. Banaszek, V. Zaitsev, Tetrahedron Asymmetry, 2004, 15, 299.
- 297. S. C. Timmons, R. H. Mosher, S. A. Knowles, D. L. Jakeman, Org. Lett., 2007, 9, 857.
- 298. B. M. Heskamp, H. J. G. Broxterman, G. A. van der Marel, J. H. van Boom, *J. Carbohydr. Chem.*, 1996, **15**, 611.
- 299. R. Dureau, L. Legentil, R. Daniellou, V. Ferrieres, J. Org. Chem., 2012, 77, 1301.
- 300. A. G. Gerbst, N. E. Ustuzhanina, A. A. Grachev, D. E. Tsvetkov, E. A. Khatuntseva, N. E. Nifant'ev, *Mend. Commun.*, 1999, 9, 114.
- J. J. P. Stewart, J. Comp. Chem., 1989, 10, 209; J. J. P. Stewart, J. Comp. Chem., 1989, 10, 221.