



## СИНТЕЗ ДИСАХАРИДА $\text{Ху}\beta\text{1-2Man}\beta$ – КОРОВОГО ФРАГМЕНТА РАСТИТЕЛЬНЫХ *N*-ГЛИКОПРОТЕИНОВ<sup>1</sup>

© 2022 г. С. В. Цыганкова\*, Г. В. Пазынина\*, А. С. Парамонов\*, А. О. Чижов\*\*, Н. В. Бовин\*.\*

\*ФГБУН “Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова” РАН, Россия, 117997 Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

\*\*Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН, Россия, 119991 Москва, Ленинский просп., 47

Поступила в редакцию 09.11.2021 г.

После доработки 30.11.2021 г.

Принята к публикации 11.12.2021 г.

Впервые синтезирован дисахарид  $\text{Ху}\beta\text{1-2Man}\beta$  в виде спейсерного производного. Этот структурный фрагмент гликопротеиновых *N*-цепей типичен для растительной клетки и не встречается у млекопитающих. Предполагается, что у растений есть белки, специфически узнающие  $\text{Ху}\beta\text{1-2Man}\beta$ , поэтому молекулярные пробы на основе этого дисахарида представляют интерес для поиска, выделения и выяснения клеточной локализации соответствующих белков – лектинов и ферментов.

*Ключевые слова:* синтез олигосахаридов,  $\beta$ -маннозилрование, растительные *N*-гликаны

DOI: 10.31857/S0132342322030204

### ВВЕДЕНИЕ

Гликан-связывающие белки (лектины, белки-транспортеры, ферменты углеводного обмена) растительной клетки изучены значительно хуже, чем соответствующие белки млекопитающих, несмотря на то, что представленность углеводной составляющей в растительной клетке существенно выше. Хотя *N*-гликаны в гликопротеинах животных и растений имеют схожее строение, у последних есть специфическая особенность –  $\beta$ -ксилозный остаток, соединенный с коровой  $\beta$ -маннозой [1, 2]. Наличие необычного  $\text{Ху}\beta\text{1}$ -заместителя предполагает выполнение специфических функций в жизнедеятельности растительной клетки и, соответственно, функционирование специфических углевод-связывающих белков.

Цель данной работы – синтез типичного для растительной клетки структурного фрагмента *N*-гликопротеиновых цепей – дисахарида  $\text{Ху}\beta\text{1-2Man}\beta$  в виде 3-аминопропилгликозида для последующего поиска, выделения и выяснения клеточной локализации ксилоза-узнающих белков в растительных экстрактах. Наличие аминокислотной группы в составе спейсера дисахарида  $\text{Ху}\beta\text{1-2Man}\beta$ -sp делает возможной иммобилизацию на чипе [3–5], получение

из него флуоресцентного зонда, аффинного адсорбента и других инструментов исследования.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Стереоселективное химическое  $\beta$ -маннозилрование – одна из наиболее сложных задач олигосахаридного синтеза. Существует несколько путей ее решения, в частности, Lichenthaler et al. в своих работах применяли подход [6], суть которого заключается в 4-стадийном получении 2-оксогликозилбромидов из D-глюкозы, гликозилрование им гликозил-акцептора в присутствии нерастворимых солей серебра и последующее стереоселективное восстановление боргидридом натрия до получения  $\beta$ -маннозида. В работах [7–9] показано, что 4,6-*O*-бензилиденные тиогликозиды с несоучаствующими группами (Вп, 2,3-изопропилиденная, триметилсилильная) при С2 и С3 обеспечивают более высокую  $\beta$ -селективность в сравнении с донорами, не обладающими этими группами. Известно также, что при использовании в качестве гликозил-донора диизопропилиденного производного тиогликозида маннозы гликозилрование протекает почти с количественным выходом (89%), но с низкой селективностью ( $\alpha/\beta$ , 1 : 1) [9].

Поскольку взаимодействие 3-трифторацетамидопропанола с полностью бензилированным бромидом или тиогликозидом маннозы в наших экспериментах привело к преимущественному

<sup>1</sup> Дополнительные материалы для этой статьи доступны по doi 10.31857/S0132342322030204 для авторизованных пользователей.

# Автор для связи: (тел.: +7 (495) 330-03-00; эл. почта: professorbovin@yandex.ru).

**Таблица 1.** Данные спектров  $^1\text{H}$ -ЯМР соединений (III) и (VII) ( $\text{CDCl}_3$ ), (IV) и (VIII) ( $\text{D}_2\text{O}$ )

Соединение	Остаток	КССВ, $J_{1,2}$ , Гц	$\delta$ , H $\beta$ , м.д.
(III $\alpha$ )	Man $\alpha$	1.8	5.30
(III $\beta$ )	Man $\beta$	1.1	5.06
(VII $\alpha$ )	Man $\alpha$	1.9	5.34
(VII $\beta$ )	Man $\beta$	<1.0	5.06
(IV $\alpha$ )	Man $\alpha$	1.7	3.81
(IV $\beta$ )	Man $\beta$	1.1	3.65
(VIII $\alpha$ )	Man $\alpha$	1.7	3.80
(VIII $\beta$ )	Man $\beta$	<1.0	3.66

образованию  $\alpha$ -аномера ( $\alpha/\beta \approx 2 : 1$ ), мы решили использовать для этой реакции дибензилиденное производное (II), которое легко получить из полного ацетата (I) [10] дез-*O*-ацетилированием и последующим введением бензилиденных групп (Bd) по схеме 1. Реакция гликозилирования 3-трифторацетиламинопропанола производным (II) в дихлорметане в присутствии *N*-иодсукцинимиды (NIS) и трифторметансульфокислоты (TfOH) при комнатной температуре с последующей заменой Bd-групп на ацетильные привела к получению смеси аномеров, из которой после хроматографического разделения (здесь и далее — на силикагеле) выделены индивидуальные  $\beta$ - и  $\alpha$ -маннозиды (III $\beta$ ) и (III $\alpha$ ) с выходом 33 и 46% соответственно. После их дезацетилирования и снятия *N*-трифторацетильной защиты получены аминопропильные производные маннозы (IV $\beta$ ) и (IV $\alpha$ ) с выходом >90%. Конфигурацию аномерного центра остатка маннозы определяли с помощью  $^1\text{H}$ -ЯМР: величины КССВ сигналов аномерных протонов при C1 для  $\beta$ -маннозидов ( $J_{1,2} < 1.1$  Гц) и  $\alpha$ -маннозидов ( $J_{1,2} 1.8$  Гц), положение химического сдвига сигнала протона при C3 [11] ( $\alpha$ -маннозиды характеризуются более слабopольным химическим сдвигом сигналов протонов при C3 по сравнению с положением этого сигнала в  $\beta$ -маннозидах) (табл. 1). Кроме того, положения сигналов протонов углеводного цикла в соединениях (III $\alpha$ ) и (IV $\alpha$ ) совпадают с таковыми для аминозетильного производного маннозы [12].

Для получения целевого дисахарида проводили удаление всех ацильных групп обработкой защищенного производного (III $\beta$ ) 0.5 М раствором метилата натрия в метаноле с последующим введением Bd-группы обработкой  $\alpha, \alpha$ -диметокситолуолом в присутствии толуолсульфокислоты. Во избежание образования дибензилиденного производного реакцию проводили с небольшим избытком реагента, и даже в этом случае образуется *бис*-аддукт, и остается исходное соединение, что снижает выход целевого продукта (V $\beta$ ). Для се-

лективной защиты гидроксила при C3 маннозного остатка была выбрана бензоильная группа (Bz) [13], которую вводили обработкой 4,6-*O*-бензилиденного производного (V $\beta$ ) бензоилхлоридом в хлористом метиле при  $-18^\circ\text{C}$  в присутствии пиридина, и после хроматографической очистки получили гликозил-акцептор (VI $\beta$ ) с выходом 54% (на три стадии). Положение бензоильной группы подтверждено химическим сдвигом сигнала протона при C3 ( $\delta$  5.30 м.д.), он находится в том же месте, что и в полном ацетате (III $\beta$ ). О наличии свободной OH-группы при C2 свидетельствует химический сдвиг сигнала протона при C2 в сильном поле ( $\delta$  4.41 м.д.), в то время как соответствующий сигнал в полном ацетате (III $\beta$ ) составляет величину  $\delta$  5.49 м.д.

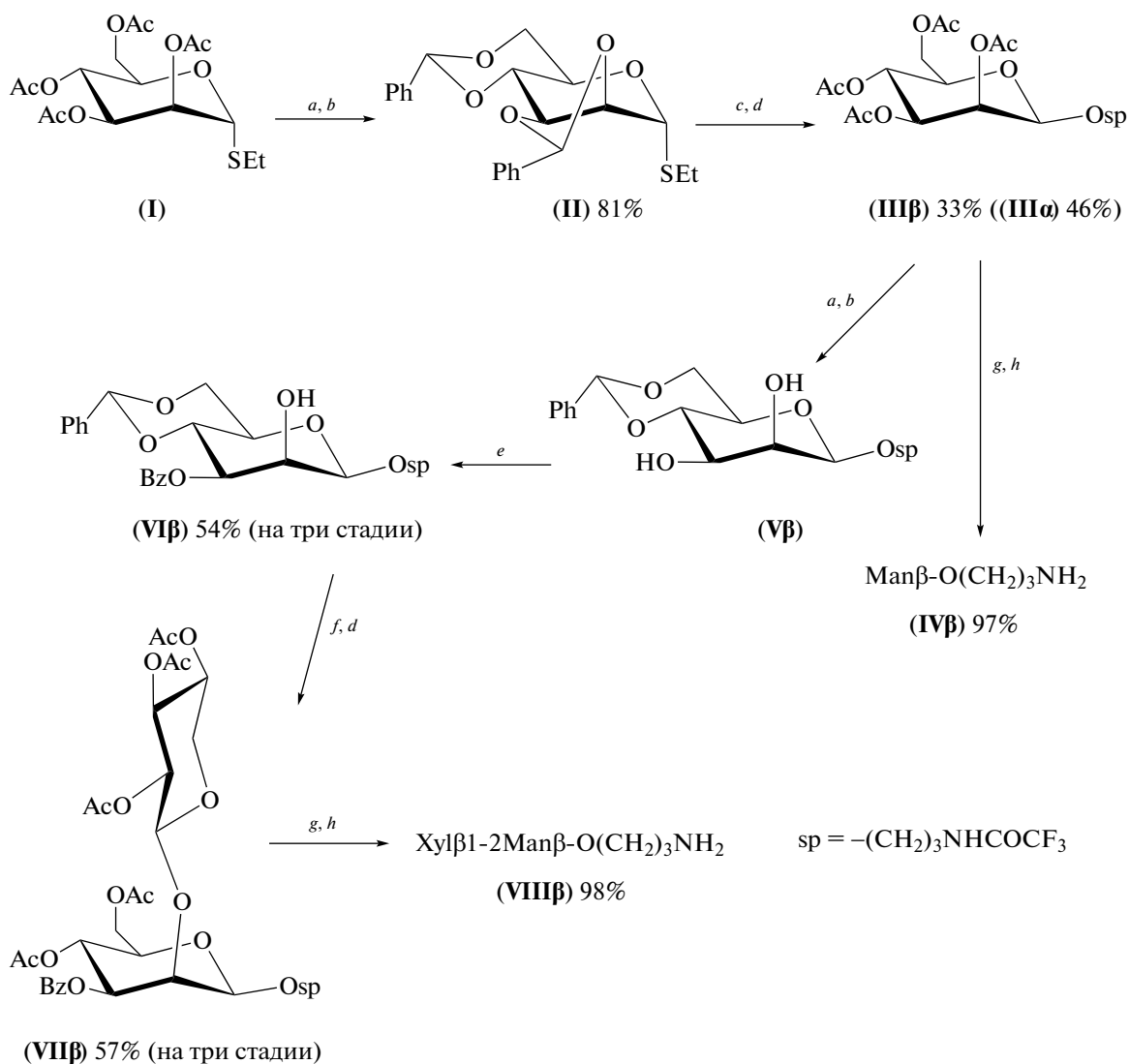
Соединение (VI $\beta$ ) гликозилировали ацетобромксилозой (X) (полученной из соответствующего полного ацетата (IX) [14] действием бромистого водорода в уксусной кислоте) методом Кенигса–Кнорра в присутствии трифлата серебра ( $\text{AgOTf}$ ) и тетраметилмочевины (ТММ) в сухом хлористом метиле [15]. После удаления бензилиденной защитной группы, ацетилирования реакционной смеси и хроматографического выделения получили дисахарид (VII $\beta$ ) с выходом 57%. В спектре  $^1\text{H}$ -ЯМР ацетата (VII $\beta$ ) сигналы протонов при C1, C2 и C3 ксилозного остатка представлены в виде двух уширенных синглетов, в которых КССВ  $J_{1,2}$  не определяется. Сильнопольное положение сигнала протона при C2 маннозы ( $\delta$  4.39 м.д.) свидетельствует о гликозилировании по этому положению. Конфигурацию остатка ксилозы в полученном дисахариде доказывали после его дезацетилирования и снятия *N*-трифторацетильной защиты. В спектре  $^1\text{H}$ -ЯМР аминопропильного производного (VIII $\beta$ ) величины КССВ сигналов протонов при C1b ( $J_{1,2} 7.8$  Гц) и при C1a ( $J_{1,2} < 1$  Гц) подтверждают  $\beta$ -конфигурацию обоих пиранозных циклов.

Для оценки вклада  $\beta$ -маннозного фрагмента в связывание дисахарида (VIII $\beta$ ) с белками по аналогичной схеме из  $\alpha$ -маннозида (III $\alpha$ ) был синтезирован дисахарид с  $\alpha$ -маннозным остатком (VIII $\alpha$ ). В спектре  $^1\text{H}$ -ЯМР величины КССВ сигналов протонов при C1b ( $J_{1,2} 7.8$  Гц) и при C1a ( $J_{1,2} 1.7$  Гц), а также химический сдвиг протона при C3 маннозного остатка ( $\delta$  3.80 м.д., табл. 1) подтверждают  $\beta$ -конфигурацию терминального ксилозного звена и  $\alpha$ -конфигурацию маннозного остатка в полученном дисахариде.

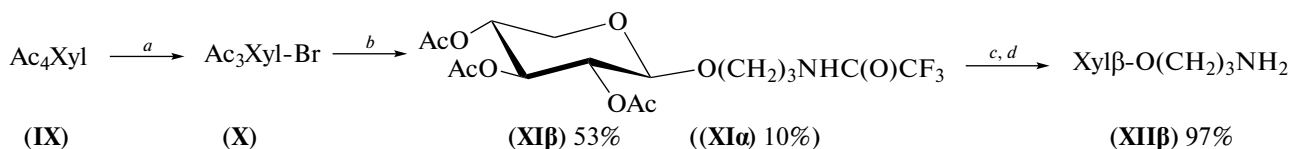
Для подтверждения специфичности связывания растительных белков с дисахаридом необходимо исключить взаимодействие с его моносахаридными фрагментами, для этого были получены маннозиды (описаны выше) и ксилозиды (описаны далее) в виде 3-аминопропилгликозидов. Гликозилированием 3-трифторацетиламинопропанола

ацетобромксилозой (**X**) в хлористом метиле в присутствии AgOTf и ТММ после хроматографического разделения получили гликозид (**XIβ**) с выходом 53% и его аномер (**XIα**) с выходом 10% (схема 2). После их дезацетилирования и снятия *N*-трифторацетильной защиты получили аминопропильные производные ксилозы (**XIIβ**) и (**XIIα**). Конфигурацию аномерного центра остат-

ка ксилозы определяли с помощью характеристической величины  $J_{1,2}$  в спектрах  $^1\text{H-NMR}$ : 7.8 Гц для  $\beta$ -аномера и 3.7 Гц для  $\alpha$ -аномера. Кроме того, положения сигналов протонов пиранозного цикла для соединений (**XIβ**) и (**XIIβ**) практически совпадают с таковыми для аминопропильного производного ксилозы [12].



**Схема 1.** Синтез дисахарида Xylβ1-2Manβ-Osp и его фрагмента Manβ-Osp. Реагенты и условия: *a* – 0.05 М MeONa/MeOH, 1 ч; *b* – PhCH(OMe)<sub>2</sub>, TsOH, MeCN; *c* – CF<sub>3</sub>C(O)NH(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>OH, NIS, TfOH, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 20 мин; *d* – 80% водн. AcOH, 70°C, 2 ч, затем Ac<sub>2</sub>O/Py; *e* – BzCl, Py, –18°C, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; *f* – Ac<sub>3</sub>XylBr, AgOTf, ТММ, MS-4Å, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 20°C, 16 ч; *g* – 0.1 М MeONa/MeOH 1 ч; *h* – 0.1 М водн. NaOH, 16 ч.



**Схема 2.** Синтез 3-аминопропильных ксилозидов. Реагенты и условия: *a* – AcBr, AcOH, MeOH, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; *b* – CF<sub>3</sub>C(O)NH(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>OH, AgOTf, ТММ, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, MS-4Å; *c* – 0.1 М MeONa/MeOH, 1 ч; *d* – 0.1 М водн. NaOH, 16 ч.

Анализ спектров  $^{13}\text{C}$ -ЯМР (DEPT) синтезированных соединений подтверждает структуру целевого дисахарида (**VIII $\beta$** ): сигналы C1a ( $\delta$  100.3 м.д.) маннозного фрагмента и C1b ( $\delta$  104.1 м.д.) ксилозного фрагмента хорошо согласуются с данными для 3-аминопропилгликозидов моносахаридов ( $\delta$  100.0 м.д. – C1 в соединении (**IV $\beta$** ), 103.0 м.д. – C1 в соединении (**XIII $\beta$** ) соответственно). Для его аномера (**VIII $\alpha$** ): сигналы C1a ( $\delta$  97.9 м.д.) маннозного фрагмента и C1b ( $\delta$  102.5 м.д.) ксилозного фрагмента хорошо согласуются с данными для 3-аминопропилгликозидов моносахаридов ( $\delta$  98.9 м.д. – C1 в соединении (**IV $\alpha$** ), 103.0 м.д. – C1 в соединении (**XIII $\alpha$** ) соответственно). О наличии аминопропильного агликона во всех полученных соединениях свидетельствуют положения сигналов углеродов ( $\delta$  37.5–37.8 м.д.  $\text{C}_\alpha\text{H}_2\text{NH}_2$ ; 26.7–28.3 м.д.  $\text{OCH}_2\text{C}_\beta\text{H}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ).

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Очистку и высушивание растворителей проводили по стандартным методикам и хранили над молекулярными ситами. Оптическое вращение измеряли на цифровом поляриметре DIP-360 (Jasco, Япония) при 20°C. Спектры  $^1\text{H}$ -ЯМР и  $^{13}\text{C}$ -ЯМР (DEPT) регистрировали на спектрометре AVANCE (Bruker BioSpin GmbH, Германия) при 25°C с рабочими частотами 700 и 176 Гц соответственно, значения химических сдвигов ( $\delta$ , м.д.) приведены с использованием  $\text{D}_2\text{O}$  ( $\delta = 4.75$ ) и  $\text{CDCl}_3$  ( $\delta = 7.27$ ) в качестве внутренних стандартов, константы спин-спинового взаимодействия измерены в герцах. Отнесение сигналов в спектрах  $^1\text{H}$ -ЯМР проводили с помощью эксперимента 2D  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY. Масс-спектры регистрировали на MALDI-TOF-спектрометре Vision-2000 (Thermo Bioanalysis Corp., Великобритания), в качестве матрицы использовали дигидроксibenзойную кислоту. Тонкослойную хроматографию (ТСХ) проводили на пластинках Kieselgel-60 (Merck, Германия), вещества обнаруживали 5%-ным водным раствором ортофосфорной кислоты при 150°C (углеводы) или раствором нингидрина (5 г/л в смеси ацетон–уксусная кислота–вода, 95 : 1 : 4, амины). Колоночную хроматографию осуществляли на силикагеле Kieselgel 60 (0.004–0.063 мм; Merck, Германия). ТСХ свободных 3-аминопропилгликозидов проводили в системе А (метанол–1 М водный раствор  $\text{Ru}\cdot\text{AcOH}$ , 5 : 1).

**Ацетилирование (общая методика)** осуществляли смесью пиридина (Py) и уксусного ангидрида (2 : 1) при 20°C в течение 12–24 ч, затем реагенты соупаривали с толуолом.

**O-дезацетилирование (общая методика)** проводили по Земплону в сухом метаноле, добавляя к раствору ацилпроизводного раствор 2 М метилата натрия в метаноле до pH 8–9. По окончании ре-

акции ионы  $\text{Na}^+$  удаляли катионитом DOWEX 50X-400- $\text{H}^+$  (Acros, Бельгия), раствор упаривали.

**O-дезацетилирование и удаление N-трифтороацетильной защиты (общая методика)** проводили добавлением 100 мкл 2 М раствора метилата натрия в метаноле к раствору 0.05 ммоль защищенного соединения в 2 мл сухого метанола; через 1 ч раствор упаривали и добавляли 2 мл воды, через 16 ч хроматографировали на колонке с катионитом DOWEX 50X-400- $\text{H}^+$  (элюция 1 М водным раствором аммиака), раствор упаривали и лиофилизовали.

**Получение ацетобромксилозы (X).** К раствору 67 мг (0.21 ммоль) полного ацетата D-ксилозы (**IX**) в 2 мл сухого дихлорметана и 0.5 мл уксусной кислоты добавляли 0.25 мл (3.4 ммоль) бромистого ацетила, охлаждали до 0°C и добавляли 0.13 мл (3.2 ммоль) метанола; реакционную смесь выдерживали 1 ч при комнатной температуре и выливали в лед; органический слой разбавляли хлороформом и промывали последовательно водой, насыщенным раствором бикарбоната натрия, водой, фильтровали через слой ваты, упаривали, соупаривали с толуолом, сушили в вакууме и без дополнительной очистки в тот же день использовали в реакциях гликозилирования, считая выход бромида количественным.

**Гликозилирование (общая методика) в присутствии  $\text{AgOTf/TMM}$ :** смесь гликозилацептора (0.1 ммоль), трифлата серебра (0.2 ммоль), TMM (0.2 ммоль) и 300 мг свежeproкаленных молекулярных сит 4 Å в 5 мл сухого хлористого метилена при комнатной температуре перемешивали 30 мин в темноте, добавляли раствор гликозилбромида (0.2 ммоль) в 2 мл хлористого метилена и перемешивали при комнатной температуре в течение 15–20 ч. Затем реакционную смесь фильтровали, фильтрат концентрировали в вакууме и выделяли продукт реакции хроматографией на силикагеле.

**(3-Трифторацетамидопропил)-2,3,4,6-тетра-O-ацетил- $\beta$ -D-маннопиранозид (III $\beta$ ).** O-дезацетилирование 330 мг (0.84 ммоль) полного ацетата (**I**) [10] проводили по Земплону, без хроматографической очистки сухой остаток растворяли в 10 мл сухого ацетонитрила, добавляли 320 мг (2.1 ммоль)  $\alpha,\alpha$ -диметокситолуола и каталитические количества толуолсульфоуксусной кислоты, через 1 ч реакционную смесь нейтрализовали пиридином, упаривали, соупаривали с толуолом. После хроматографического выделения (элюция толуол, затем толуол : этилацетат, 20 : 1) получили 270 мг (81%) тиогликозида (**II**). Смесь 3-трифторацетамидопропанола (165 мкл, 1.35 ммоль), тиогликозида (**II**) (270 мг, 0.68 ммоль) и молекулярных сит 4 Å в 5 мл сухого хлористого метилена перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч, добавляли 225 мг (1 ммоль) NIS и TfOH

(0.1 ммоль) в виде 0.1 М раствора в сухом хлористом метиле, перемешивали при комнатной температуре в течение 20–30 мин, фильтровали, фильтрат промывали последовательно 10%-ным раствором  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ , водой, упаривали, соупаривали с толуолом. Без хроматографической очистки сухой остаток растворяли в 5 мл 80%-ной водной уксусной кислоты, выдержали 2 ч при 70°C, затем соупаривали с толуолом и проводили ацетилирование в 6 мл смеси пиридина и уксусного ангидрида (2 : 1). После хроматографического разделения реакционной смеси (элюция толуол–этилацетат, 1 : 1) получили 110 мг (33%) продукта (IIIβ) и 152 мг (46%) его аномера (IIIα).

**(3-Аминопропил)-β-D-маннопиранозид (IVβ).** Дез-О-ацетилированием и удалением *N*-трифторацетильной защиты из 50 мг (0.1 ммоль) моносахарида (IIIβ) получили 23 мг (98%) продукта (IVβ).

**(3-Аминопропил)-α-D-маннопиранозид (IVα).** Дез-О-ацетилированием и удалением *N*-трифторацетильной защиты из 50 мг (0.1 ммоль) моносахарида (IIIα) получили 21 мг (90%) продукта (IVα).

**(3-Трифторацетамидопропил)-4,6-бензилиден-3-бензоил-β-D-маннопиранозид (VIβ).** О-дезацетилирование 220 мг (0.44 ммоль) полного ацетата (IIIβ) проводили по Земплону, без хроматографической очистки сухой остаток растворяли в 12 мл сухого ацетонитрила, добавляли 80 мг (0.53 ммоль) α,α-диметокситолуола и каталитические количества толуолсульфокислоты, через 1 ч реакционную смесь нейтрализовали пиридином, упаривали, соупаривали с толуолом. Сухой остаток растворяли в 4 мл сухого дихлорметана, содержащего пиридин (0.8 мл), охлаждали до –18°C и добавляли 56 мкл (0.48 ммоль) бензоилхлорида. Через 1 ч реакционную смесь разбавляли дихлорметаном, промывали 1 М раствором HCl, затем водой. Органический слой фильтровали через слой ваты, соупаривали с толуолом, хроматографировали на силикагеле (элюция толуол–этилацетат, 2 : 1) и получили 125 мг (54%) продукта (VIβ).

**(3-Трифторацетамидопропил)-2,3,4-три-О-ацетил-β-D-ксилопиранозил-(1→2)-3-бензоил-4,6-ди-О-ацетил-β-D-маннопиранозид (VIIβ).** Гликозилирование акцептора (VIβ) (125 мг, 0.24 ммоль) ацетобромксилозой (X), полученной из 151 мг (0.48 ммоль) полного ацетата (IX), проводили по общей методике, без хроматографической очистки сухой остаток растворяли в 5 мл 80%-ной водной уксусной кислоты, выдерживали 2 ч при 70°C, соупаривали с толуолом и ацетилировали 6 мл смеси пиридина и уксусного ангидрида (2 : 1). Хроматографией на силикагеле (элюция толуол–этилацетат, 3 : 2 → 1 : 1) получили 105 мг (57%) дисахарида (VIIβ).

**(3-Трифторацетамидопропил)-2,3,4-три-О-ацетил-β-D-ксилопиранозил-(1→2)-3-бензоил-4,6-ди-О-ацетил-α-D-маннопиранозид (VIIα).** Как описано

выше для синтеза (VIIβ), из 200 мг соединения (IIIα) получили 60 мг продукта (VIIα).

**(3-Аминопропил)-β-D-ксилопиранозил-(1→2)-β-D-маннопиранозид (VIIIβ).** Дез-О-ацетилированием и удалением *N*-трифторацетильной защиты из 45 мг (0.058 ммоль) дисахарида (VIIβ) получили 20.5 мг (98%) продукта (VIIIβ).

**(3-Аминопропил)-β-D-ксилопиранозил-(1→2)-α-D-маннопиранозид (VIIIα).** Дез-О-ацетилированием и удалением *N*-трифторацетильной защиты из 50 мг (0.064 ммоль) дисахарида (VIIα) получили 22 мг (95%) продукта (VIIIα).

**(3-Трифторацетамидопропил)-2,3,4-три-О-ацетил-β-D-ксилопиранозид (XIβ).** Гликозилированием ацетобромксилозой (X), полученной из 318 мг (1 ммоль) полного ацетата (IX), 3-трифторацетамидопропанола (244 мкл, 2 ммоль) по общей методике после хроматографического разделения (элюция гексан–этилацетат, 1 : 1) получили 227 мг (53%) ксилопиранозид (XIβ) и 42 мг (10%) его аномера (XIα).

**(3-Аминопропил)-β-D-ксилопиранозид (XIIβ).** Дез-О-ацетилированием и удалением *N*-трифторацетильной защиты из 155 мг (0.36 ммоль) полного ацетата (XIβ) получили 72 мг (97%) моносахарида (XIIβ).

**(3-Аминопропил)-α-D-ксилопиранозид (XIIα).** Дез-О-ацетилированием и удалением *N*-трифторацетильной защиты из 42 мг (0.1 ммоль) полного ацетата (XIα) получили 18 мг (90%) моносахарида (XIIα).

Физико-химические характеристики (данные  $^1\text{H}$ - и  $^{13}\text{C}$ -ЯМР, масс-спектров, оптическое вращение) синтезированных соединений приведены в дополнительных материалах.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Был синтезирован характерный для растительных гликопротеиновых цепей дисахаридный фрагмент  $\text{Xyl}\beta\text{1-2Man}\beta\text{-O}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$  (VIIIβ), а также некоторые его аналоги и частичные структуры, также необходимые для характеристики белков, узнающих целевой дисахарид, а именно  $\text{Xyl}\beta\text{1-2Man}\alpha\text{-O}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$  (VIIIα),  $\text{Xyl}\beta\text{-O}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$  (XIIβ),  $\text{Xyl}\alpha\text{-O}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$  (XIIα),  $\text{Man}\alpha\text{-O}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$  (IVα) и  $\text{Man}\beta\text{-O}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$  (IVβ). Строение всех полученных соединений подтверждено данными  $^1\text{H}$ - и  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектроскопии (700 МГц) с использованием эксперимента COSY и данными масс-спектрометрии.

Полученные соединения вместе с другими (ранее синтезированными) гликанами и фрагментами полисахаридов вошли в состав гликанового эррея, с помощью которого в настоящее время изучается специфичность выделенных ранее индивидуальных лектинов, а также проводится по-

иск ксилоза-узнающих белков в составе растительных экстрактов.

#### ФОНДОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 20-63-47110).

#### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей и использованием животных в качестве объектов.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bardor M., Faveeuw C., Fichette A.C., Gilbert D., Galas L., Trottein F., Faye L., Lerouge P. // *Glycobiology*. 2003. V. 13. P. 427–434. <https://doi.org/10.1093/glycob/cwg024>
2. Gomord V., Fichette A.-C., Menu-Bouaouiche L., Saint-Jore-Dupas C., Plasson C., Michaud D., Faye L. // *Plant Biotechnol. J.* 2010. V. 8. P. 564–587. <https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2009.00497.x>
3. Galanina O.E., Mecklenburg M., Nifantiev N.E., Pazylnina G.V., Bovin N.V. // *Lab. Chip*. 2003. V. 3. P. 260–265. <https://doi.org/10.1039/B305963D>
4. Blixt O., Head S., Mondala T., Scanlan C., Huflejt M.E., Alvarez R., Bryan M.C., Fazio F., Calareso D., Stevens J., Razi N., Stevens D.J., Shehel J.J., Die I., Burton D.R., Wilson I.A., Cummings R., Bovin N., Wong C., Paulson J.C. // *PNAS*. 2004. V. 101. P. 17033–17038. <https://doi.org/10.1073/pnas.0407902101>
5. Navakouski M., Shilova N., Khasbiullina N., Feofanov A., Pudova E., Chen K., Blixt O., Bovin N. // *BioTechniques*. 2018. V. 64. P. 110–116. <https://doi.org/10.2144/btn-2017-0111>
6. Lichtenthaler F.W., Schneider-Adams T. // *J. Org. Chem.* 1994. V. 59. P. 6728–6734. <https://doi.org/10.1021/jo00101a035>
7. Mannino M.P., Demchenko A.V. // *Chem. Eur. J.* 2020. V. 26. P. 2927–2937. <https://doi.org/10.1002/chem.201905277>
8. Nigudkar S.S., Demchenko A.V. // *Chem. Sci.* 2015. V. 6. P. 2687–2704. <https://doi.org/10.1039/C5SC00280J>
9. Crich D., Sun S. // *Tetrahedron*. 1998. V. 54. P. 8321–8348. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(98\)00426-8](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(98)00426-8)
10. Alex C., Visansirikul S., Zhang Y., Yasomane J.P., Codee J., Demchenko A.V. // *Carbohydr. Res.* 2020. V. 488. P. 107900. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2019.107900>
11. Alex C., Visansirikul S., Demchenko A.V. // *Org. Biomol. Chem.* 2020. V. 18. P. 6682–6695. <https://doi.org/10.1039/D0OB01640C>
12. Sardzik R., Noble G.T., Weissenborn M.J., Martin A., Webb S.J., Flitsch S.L. // *Beilstein J. Org. Chem.* 2010. V. 6. P. 699–703. <https://doi.org/10.3762/bjoc.6.81>
13. Ma Z., Zhang J., Kong F. // *Carbohydr. Res.* 2004. V. 339. P. 1761–1771. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2004.04.012>
14. Bulman Page P.C., Chan Y., Liddle J., Elsegood M.R.J. // *Tetrahedron*. 2014. V. 70. P. 7283–7305. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2014.07.052>
15. Pazylnina G.V., Severov V.V., Bovin N.V. // *Russ. J. Bioorg. Chem.* 2008. V. 34. P. 625–631. <https://doi.org/10.1134/S1068162008050129>

## Synthesis of Disaccharide Xyl $\beta$ 1-2Man $\beta$ , Which Is a Core Fragment of Plant N-Glycoproteins

S. V. Tsygankova\*, G. V. Pazylnina\*, A. S. Paramonov\*, A. O. Chizhov\*\*, and N. V. Bovin\*, #

#Phone: +7 (495) 330-03-00; e-mail: professorbovin@yandex.ru

\*Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Science, ul. Miklukho-Maklaya 16/10, Moscow, 117997 Russia

\*\*N.D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry Russian Academy of Sciences, Leninsky prosp. 47, Moscow, 119991 Russia

The disaccharide Xyl $\beta$ 1-2Man $\beta$  was synthesized for the first time as a spacer-armed derivative. This structural fragment is typical of the N-chains of plant cell glycoproteins and is not found in mammals. It is assumed that plants have proteins that specifically recognize the Xyl $\beta$ 1-2Man $\beta$  motif; therefore, molecular probes based on this disaccharide are of interest for searching, isolating, and finding the cellular localization of such cognate proteins as lectins and enzymes.

*Keywords:* synthesis of oligosaccharides,  $\beta$ -mannosylation, plant N-glycoproteins