

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
ИНСТИТУТ ОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ имени Н.Д. ЗЕЛИНСКОГО

На правах рукописи

УСТЮЖАНИНА НАДЕЖДА ЕВГЕНЬЕВНА

**СТЕРЕОНАПРАВЛЕННЫЙ СИНТЕЗ
ФРАГМЕНТОВ ФУКОИДАНОВ**

02.00.03 – органическая химия

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Москва

2005

Работа выполнена в лаборатории химии гликоконъюгатов (№52)
Института органической химии имени Н.Д. Зелинского
Российской академии наук

Научный руководитель:

доктор химических наук Николай Эдуардович Нифантьев

Официальные оппоненты:

доктор химических наук, профессор Леон Владимирович Бакиновский

доктор химических наук Дмитрий Владимирович Яшунский

Ведущая организация:

химический факультет Московского Государственного Университета
имени М.В. Ломоносова

Защита состоится 10 июня 2005 года в 10 часов на заседании диссертационного совета К 002.222.01 при Институте органической химии имени Н.Д. Зелинского РАН по адресу 119991, Москва, Ленинский проспект, 47.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ИОХ РАН

Автореферат разослан «6» мая 2005 г.

Ученый секретарь диссертационного
совета К 002.222.01
доктор химических наук



Родиновская Л.А.

2006-4
7895

2152686

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Углевод-белковые взаимодействия определяют протекание многих важных физиологических процессов. В связи с этим представляется перспективным использование доступных природных олиго- и полисахаридов и их модифицированных производных для получения фармацевтических препаратов. Среди интенсивно исследуемых природных углеводных макромолекул все возрастающий интерес вызывают полисахариды фукоиданы, выделенные из бурых водорослей и морских беспозвоночных. Эти биополимеры эффективно ингибируют опосредованные L- и P-селектинами воспаления, оказывают антикоагулянтное и антиангиогенное действие, блокируют бактериальную и вирусную адгезию на клетках млекопитающих. Такой широкий спектр физиологической активности обусловлен, по-видимому, тем, что отдельные участки углеводной цепи фукоиданов мимикрируют природные лиганды белковых рецепторов.

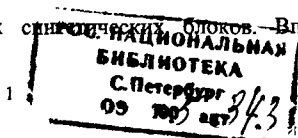
Фукоиданы построены преимущественно из остатков α -L-фукопиранозы. Наличие сульфатных и ацетильных групп, углеводных заместителей (остатков фукозы, ксилозы, глюкозы, глюкуроновой кислоты, маннозы) вносит существенное разнообразие в структуру фукоиданов, маскирует регулярность их цепей и значительно усложняет установление строения этих полисахаридов с использованием известных химических и физико-химических методов.

Направленный синтез и изучение свойств фрагментов представляется перспективным подходом к выявлению взаимосвязи структуры и свойств фукоиданов. Синтетические олигосахариды, включающие фрагменты фукоиданов, являются ценными модельными соединениями: их спектральные (ЯМР) данные необходимы для анализа структуры полисахаридов, а их биохимическое исследование позволит определить участки углеводных цепей, ответственные за физиологическую активность.

Целью работы является разработка эффективного блочного синтеза олигосахаридных фрагментов фукоиданов, построенных из несульфатированных и избирательно сульфатированных остатков α -L-фукопиранозы, различающихся длиной цепи (от ди- до октасахаридов), типом гликозидных связей, степенью сульфатирования и расстановкой сульфатных групп.

Научная новизна и практическая ценность работы. Впервые проведен регио- и стереонаправленный синтез большой группы избирательно сульфатированных и несульфатированных фукоолигосахаридных фрагментов фукоиданов 1-28. Полученные соединения соответствуют линейным и разветвленным участкам цепей полисахаридов.

В ходе работы были изучены новые методы построения α -L-фукозидной связи с использованием моно- и олигосахаридных синтетических блоков. Впервые отмечено



стереоконтролирующее влияние ацильных заместителей при *O*-3 в структуре фукозил-доноров. Использование оптимально защищенных моно-, ди- и тетрасахаридных блоков позволило осуществить эффективный синтез три-, тетра-, гекса- и октасахаридов по конвергентным схемам сборки углеводных цепей [1+2], [2+2], [2+4] и [4+4], соответственно.

Синтезированные олигосахариды **1-28** являются ценными модельными соединениями для структурных, конформационных и биохимических исследований природных фукоиданов.

Публикация и опробация работы. По результатам диссертации опубликованы 7 статей и 1 принята к печати. Отдельные части работы были представлены на V молодежной научной школе-конференции по органической химии (Екатеринбург, 2002), XVII Менделеевском съезде по общей и прикладной химии (Казань, 2003), VI молодежной научной школе-конференции по органической химии (Новосибирск, 2003), XXII Международном симпозиуме по углеводам (Глазго, 2004).

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 130 страницах и состоит из введения, литературного обзора, посвященного методам построения 1,2-*цис*-гликозидной связи и проводившимся ранее синтезам фрагментов фукоиданов, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов и списка цитированной литературы.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

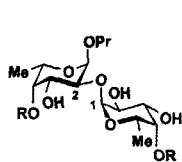
1. Целевые соединения и стратегия их синтеза

В данной работе при выборе целевых соединений, соответствующих участкам цепей фукоиданов, нами учитывались не только линейные размеры молекул, но и такие тонкие детали структуры как тип гликозидной связи между моносахаридными звеньями, наличие разветвлений и положение сульфатных групп.

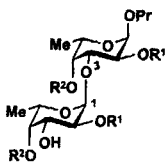
Различают два типа основных цепей фукоиданов: первые построены преимущественно из повторяющихся (1→3)- α -связанных фукозных остатков, а для вторых характерно чередование (1→3)- и (1→4)- α -гликозидных связей между фукозными звеньями. Вариации в расстановке заместителей в основной цепи связаны с различием путей биосинтеза этих полисахаридов в разных видах водорослей и беспозвоночных. Так, остатки моносахаридов (фукозы, ксилозы, глюкозы, глюкуроновой кислоты, маннозы), сульфатные и ацетильные группы могут находиться либо при *O*-2, либо при *O*-4 интернальных фукозных остатков. Соотношение фукозы и сульфата варьируется в пределах от 1·0,7 до 1·1,5

В качестве целевых структур в данной работе были выбраны несulfатированные и избирательно sulfатированные фукоолигосахариды 1-28, родственные обоим указанным выше типам цепей фукоиданов. Это линейные тетра- (19-23), гекса- (24-27) и октасахариды (28), 2,3-разветвленные тетрасахариды (16-18), а также все составляющие их ди- (1-7) и трисахариды (8-15). Сульфатные группы в sulfатированных соединениях расположены при *O*-2 или при *O*-4 фукозных остатков.

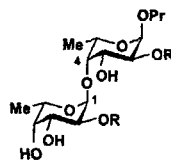
Ключевым этапом синтеза олигосахаридов является регио- и стереонаправленное построение гликозидной связи между углеводными фрагментами. В ходе синтеза соединений 1-28 решение проблемы региоизбирательности гликозидирования заключалось в использовании либо моногидроксильных гликозил-акцепторов, либо диольных соединений, гидроксильные группы в которых существенно различаются по реакционной способности (экваториальная и аксиальная).



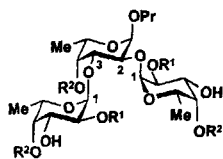
1 R = H
2 R = SO₃Na



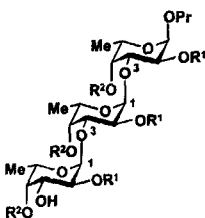
3 R¹ = R² = H
4 R¹ = SO₃Na, R² = H
5 R¹ = H, R² = SO₃Na



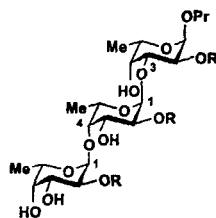
6 R = H
7 R = SO₃Na



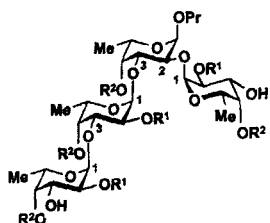
8 R¹ = R² = H
9 R¹ = SO₃Na, R² = H
10 R¹ = H, R² = SO₃Na



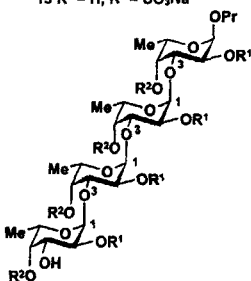
11 R¹ = R² = H
12 R¹ = SO₃Na, R² = H
13 R¹ = H, R² = SO₃Na



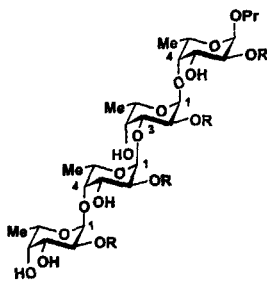
14 R = H
15 R = SO₃Na



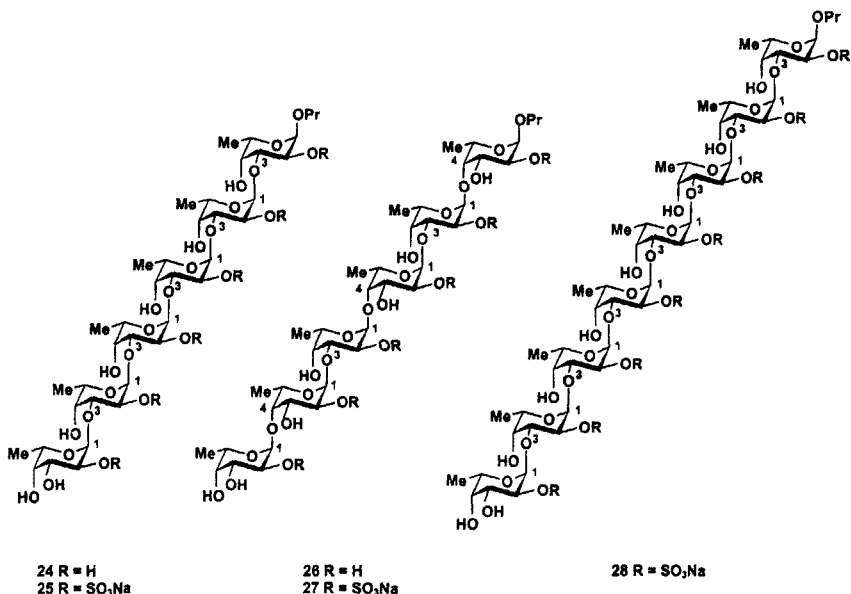
16 R¹ = R² = H
17 R¹ = SO₃Na, R² = H
18 R¹ = H, R² = SO₃Na



19 R¹ = R² = H
20 R¹ = SO₃Na, R² = H
21 R¹ = H, R² = SO₃Na



22 R = H
23 R = SO₃Na



Фукозные остатки в целевых олигосахаридах **1-28** соединены 1,2-*цис*-(α)-гликозидной связью. При проведении гликозилирования необходимо учитывать, что такие факторы, как строение гликозил-донорных и гликозил-акцепторных блоков, природа промотирующей системы и растворителя, температура, оказывают решающее влияние на стереохимический результат реакции. В связи с этим разработка методов стереоизбирательного построения α -фукозидной связи являлась предметом отдельного исследования в рамках настоящей диссертации, посвященного детальному изучению стереоконтролирующего влияния заместителей в гликозил-донорах.

Наличие несоучаствующего заместителя при *O*-2 в гликозил-доноре является необходимым требованием для создания 1,2-*цис*-гликозидной связи. В случае же использования доноров, содержащих соучаствующую ацильную группу при *O*-2, образующийся в ходе реакции гликозил-катион (катион **I**) может быть стабилизирован за счет анхимерного содействия ацильного заместителя (катион **II**), что способствует образованию 1,2-*транс*-гликозидов (Схема 1) Поэтому в данной работе были использованы только 2-*O*-бензилированные производные, а в качестве α -стереоконтролирующего фактора было исследовано соучастие ацильных заместителей, распочуженных при *O*-3 и при *O*-4 в фукозил-донорах

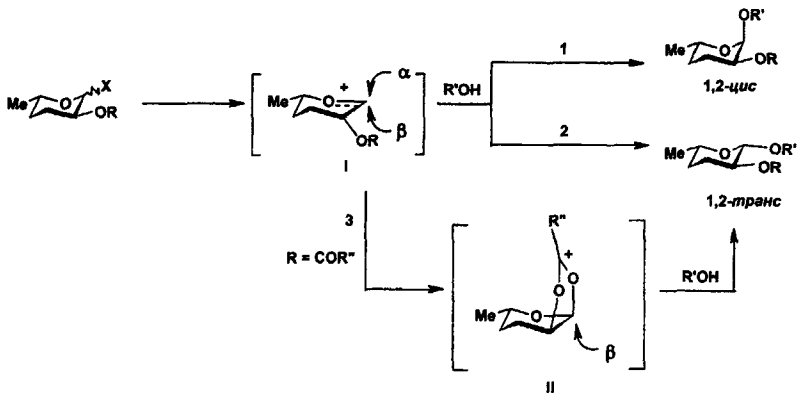


Схема 1 Влияние природы заместителя при O-2 в структуре гликозил-донора на стереоизбирательность реакции гликозилирования

Синтез крупных олигосахаридов путем последовательного введения моносахаридных фрагментов в молекулу связан с трудностью отделения продуктов от исходных соединений. В связи с этим для получения тетра-, гекса- и октасахаридов нами были использованы конвергентные схемы [2+2], [2+4] и [4+4] сборки углеводных цепей, соответственно.

Синтез изомерных олигосахаридов, несущих сульфатные группы при O-2 или при O-4 фукозных остатков, представлялось наиболее удобным проводить исходя из общего предшественника. В качестве таковых для серий линейных и разветвленных олигосахаридов были использованы соединения, содержащие ортогональные 2-O-бензильные и 4-O-ацильные защитные группы в фукозных звеньях. Такая расстановка защитных групп позволяла обеспечивать и необходимый стереохимический результат гликозилирования.

2. Синтез моносахаридных предшественников

Целевые олигосахариды **1-28**, построенные из остатков L-фукопиранозы, были синтезированы из общего моносахаридного предшественника аллил- α -L-фукопиранозида **29**. Использование аллильной группы для защиты аномерного центра, обусловлено тем, что, с одной стороны, она может быть избирательно удалена в присутствии ацильных, алкильных, бензильных, силильных заместителей, а с другой - восстановлена в пропильную группу или трансформирована в агликон-спейсер. Это позволяет переводить защищенные аллилгликозиды как в соответствующие полуацетали, используемые в синтезе более сложных молекул, так и в пропил-гликозиды или гликоконъюгаты, широко применяемые при проведении биологических исследований.

Фукозные остатки в целевых олигосахариде соединены (1 \rightarrow 2)-, (1 \rightarrow 3)- и (1 \rightarrow 4)-гликозидными связями. В связи с этим для обеспечения региоизбирательности реакции

гликозилирования из аллил-фукозида **29** был получен ряд моносахаридных фукозил-акцепторных блоков, содержащих свободные гидроксильные группы при C-3 (в **30** и **31**), C-4 (в **32**), C-2 (в **34**), а также 3,4-диольный фрагмент (в **35**) (Схема 2).

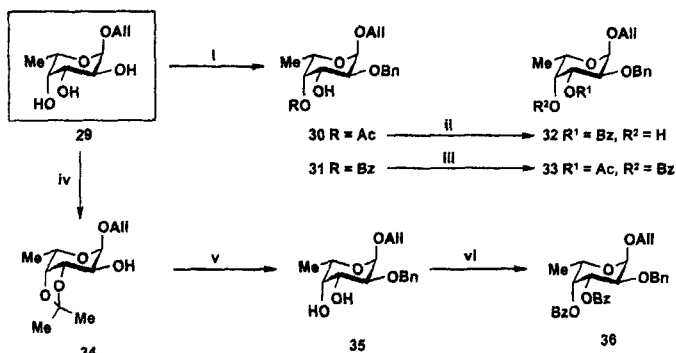


Схема 2. I: $(\text{EtO})_2\text{CMe}$ (для **30**) $(\text{EtO})_2\text{CPh}$ (для **31**), TsOH; NaH, BnBr, ДМФА; 80% AcOH, 85% для **30**, 83% для **31**; II: BzCl, Py, 2% HCl в MeOH, 70%, III: AcCl, Py, 95%; IV: $(\text{MeO})_2\text{CMe}_2$, TsOH, 90%, V: NaH, BnBr, 80% AcOH, 85%; VI: BzCl, Py, 85%

При проведении синтеза моносахаридных блоков была использована возможность избирательной функционализации 3,4-цис-диольной группировки в структуре аллил-фукозида **29**. Так, для получения соединений **30** и **31** триол **29** первоначально переводили в циклический 3,4-ортоэфир, который далее 2-О-бензилировали. В полученном сполна защищенном производном региоизбирательно раскрывали ортоэфир с высвобождением экваториальной гидроксильной группы при C-3. 3-О-Бензоилирование фукозида **30** и последующее 4-О-деацетилирование продукта в условиях кислотного метанолиза приводили к фукозил-акцетору **32**, содержащему свободную гидроксильную группу при C-4. Постановка изопропилиденовой защиты на 3,4-цис-диольную группировку аллил-фукозида **29** приводила к ацетониду **34** (90%). Диол **35** был получен удалением изопропилиденовой защиты в 2-О-бензилированном производном соединения **34**.

Использование оловоорганических производных аллил-фукозида **29** позволило избирательно защитить гидроксильные группы как только при C-3, так и одновременно при C-2 и C-3. Действием дибутилоловооксида (Bu_2SnO) на аллил-фукозид **29** и последующей обработкой полученного интермедиата избытком бензилбромида в присутствии тетрабутиламмонийбромида (Bu_4NBr) получали смесь 3-О-бензилированного производного **37** (35%) и 2,3-ди-О-бензилированного фукозида **38** (55%) (Схема 3). Для синтеза 2,4-ди-О-бензилированного аллил-фукозида **39** оловоорганическое производное обрабатывали эквивалентным количеством *para*-метоксибензилхлорида, далее полученное соединение

бензилировали, после чего удаляли временную *para*-метоксibenзильную защитную группу. Выход фукозида **39** составил 70%.

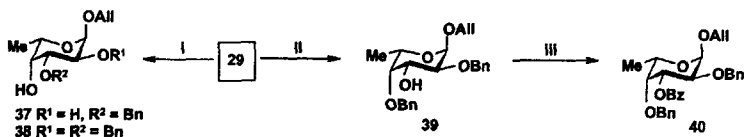


Схема 3. i: Bu₂SnO, 2,2 экв. BnBr, Bu₄NBr, 35% для **37** и 55% для **38**; ii: Bu₂SnO, *p*-OMe-BnCl, Bu₄NBr; NaH, BnBr, 80% AcOH, 70%, iii. BzCl, Py, 86%.

Для синтеза фукозил-донорных блоков соединения **29**, **31**, **35**, **38** и **39** были переведены в сполна защищенные производные **33**, **36**, **40-44** (Схемы 2-4). Исчерпывающим бензилированием аллил-фукозида **29** было получено 2,3,4-три-*O*-бензилированное производное **41**. Ацетилирование соединения **31** приводило к аллил 2-*O*-бензил-3-*O*-ацетил-4-*O*-бензоил-фукопиранозиду **33**. Действием хлорангидридов бензойной, *para*-нитро- и *para*-метоксibenзойной кислот в присутствии пиридина на 2,3-ди-*O*-бензилированный фукозид **38** получали серию 4-*O*-ацилированных производных **42-44**. Бензоилированием моногидроксильного производного **39** и 3,4-диола **35** получали фукозиды, несущие бензоильные группы только при *O*-3 (**40**) и одновременно при *O*-3 и *O*-4 (**36**).

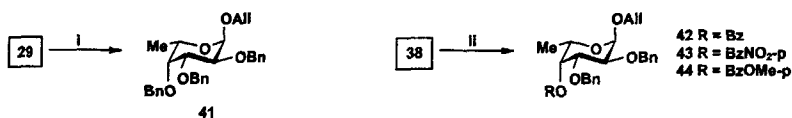


Схема 4. i: NaH, BnBr, ДМФА, 90%; ii: RCl, Py, 75-85%, iii: BzCl, Py, 82%.

Удаление аллильной защиты в фукозидах **33**, **36**, **40-44** проводили действием хлорида палладия (PdCl₂) в метаноле с образованием полуацеталей **45** с выходами 76-85% (Схема 5). Последние далее были переведены в бромиды **46** и в трихлорацетимидаты **47**, которые были получены в виде смеси α- и β-изомеров, что было подтверждено данными спектров ¹H-ЯМР. Так, в аномерной области спектров ¹H-ЯМР соединений **46** и **47** были обнаружены два дублета: константа спин-спинового взаимодействия (КССВ) J_{1,2} одного из них составляла 3,3-3,5 Hz, что характерно для α-конфигурации, а КССВ J_{1,2} другого – 8,7-9,4 Hz, что соответствует β-конфигурации.

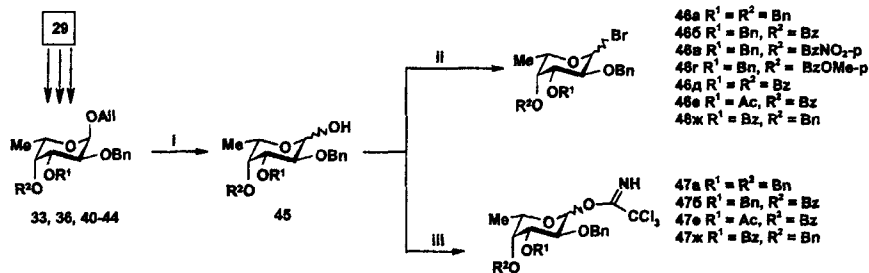


Схема 5. I: PdCl₂, MeOH, 76-85%; II: CBr₄, PPh₃, 95%; III: CCl₃CN, DBU, 90-95%.

3. Исследование влияния природы заместителей в моносахаридных фукозил-донорах на стереоизбирательность гликозилрования

Для синтеза целевых соединений 1-28 необходимо было использовать эффективные α-фукозилрующие агенты. Как было отмечено выше, наличие несоучаствующего заместителя при O-2 в гликозил-донорах является важным условием для построения 1,2-цис-гликозидной связи. Кроме того, согласно литературным данным, наличие ацильного заместителя при O-4 в D-галактозил- и L-фукозил-донорах также способствует образованию 1,2-цис-гликозидов. Этот стереохимический эффект объясняли стабилизацией гликозил-катиона I в результате анхимерного содействия заместителя при O-4 с образованием гликозил-катиона III, атака нуклеофилом которого возможна только с α-стороны (Схема 6). Поэтому первоначально в качестве фукозил-доноров нами были исследованы серии бромидов 46а-е и трихлорацетимидатов 47а,б,е, содержащих несоучаствующую бензильную группу при O-2, а при O-4 – либо несоучаствующую (бензильную), либо соучаствующую (ацильную).

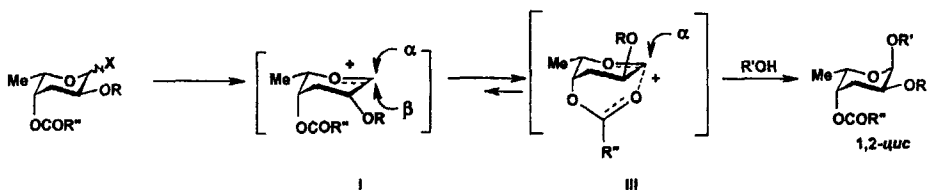


Схема 6. Стереоконтролирующее влияние ацильного заместителя при O-4 в фукозил-донорах.

В качестве модельного фукозил-акцептора был использован ацетонид 34, содержащий свободную гидроксильную группу при C-2 (Схема 7). Гликозилрование бромиды 46 проводили при 20°C в дихлорметане (CH₂Cl₂) с использованием цианида ртути (Hg(CN)₂) в качестве промотора и бромида ртути (HgBr₂) в качестве катализатора. Выходы дисахаридов составили 70-75% (Таблица 1). Реакции с трихлорацетимидатами 47 проводили при -30°C в

CH_2Cl_2 с использованием триметилсилилтрифлата (TMSOTf) в качестве катализатора. Дисахаридные продукты были выделены с выходами 82-87%. Фукозилирование донорами 47 при более низких температурах приводило к уменьшению выхода *O*-гликозида, при этом доминирующим направлением реакции становилось образование α -связанного *N*-гликозида (например, 50 из 47e).

Соотношение образующихся в ходе реакций α - и β -изомерных дисахаридов 48 и 49 было определено по соотношению интегральных интенсивностей сигналов аномерных протонов H-1' в спектрах ^1H ЯМР. Выбранные сигналы являются дублетами с характеристическими величинами КССВ $J_{1,2}$, составляющими 3,3-3,6 Hz для α -изомеров и 7,5-8,3 Hz для β -изомеров.

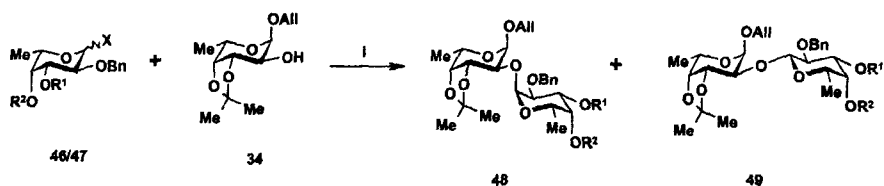


Схема 7. I для 46: $\text{Hg}(\text{CN})_2$, HgBr_2 , CH_2Cl_2 , 20°C, 12-24 часа, 46:34 1,5:1, 70-75%; I для 47: 0,1M *p-p* TMSOTf, CH_2Cl_2 , -30°C, 5 минут, 47:34 1,1:1, 82-87%.

Таблица 1. Результаты реакции гликозилирования ацетонида 34 донорами 46 и 47.

Опыт	Донор	X	R ¹	R ²	α : β *
1	46a	Br	Bn	Bn	1:1
2	46б	Br	Bn	Bz	3,5:1
3	46в	Br	Bn	BzNO _{2-p}	1,9:1
4	46г	Br	Bn	BzOMe-p	5:1
5	46д	Br	Bz	Bz	20:1
6	46e	Br	Ac	Bz	только α
7	46ж	Br	Bz	Bn	13:1
8	47a	OC(NH)CCl ₃	Bn	Bn	1,4:1
9	47б	OC(NH)CCl ₃	Bn	Bz	4:1
10	47e	OC(NH)CCl ₃	Ac	Bz	только α
11	47ж	OC(NH)CCl ₃	Bz	Bn	12:1

*Соотношение изомеров определялось с помощью методов спектроскопии ^1H ЯМР.

Как мы и предполагали, наличие ацильного заместителя при *O*-4 в структуре фукозил-донора увеличивало выход α -связанного изомера (опыты 2-6, 9-11, Таблица 1), в то время как гликозилирование 2,3,4-три-*O*-бензилированными донорами проходило с низкой стереоизбирательностью (опыты 1,8, Таблица 1). Наилучший результат в серии доноров, несущих

ацильную группу только при *O*-4 был достигнут при использовании 4-*O*-(*para*)-метоксибензоилированного бромида 46г (α : β 5:1). Это объясняли тем, что электронодонорная метоксильная группа, находящаяся в *para*-положении бензоильного заместителя, усиливает стабилизацию гликозил-катиона V (Рисунок 1) вследствие положительного мезомерного эффекта.

Неожиданным результатом была значительно большая α -стереоизбирательность гликозилирования при использовании 3,4-ди-*O*-ацелированных фукозил-доноров 46д,е и 47е. Мы предположили, что в случае этих соединений в ходе реакции наряду с катионом V образуется катион VI (Рисунок 1), стабилизированный в результате анхимерного содействия ацильной группы при *O*-3. Как представлено на Рисунке 1, взаимодействие катиона VI с нуклеофилом предпочтительно с α -стороны.

Для проверки этого предположения и сопоставления стереоконтролирующего влияния ацильных заместителей при *O*-4 и *O*-3 нами были проведены реакции гликозилирования донорами 46ж и 47ж, содержащими соучаствующую бензоильную группу только при *O*-3. Результаты реакций (α : β 13:1 и 12:1) позволяют сделать вывод о том, что стереоконтролирующий эффект заместителя при *O*-3 превышает таковой для заместителя при *O*-4.

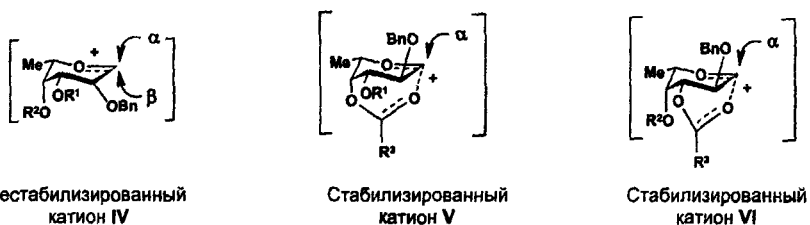


Рисунок 1. Нестабилизованный (IV) и стабилизированные (V и VI) фукозил-катионы.

Для подтверждения этой гипотезы были проведены молекулярно-механические расчеты¹ величин энергии стабилизации (ΔE) катионов V и VI с использованием силового поля ММ+. Результаты расчетов (Таблица 2) хорошо согласовывались с экспериментальными данными и свидетельствовали, что образование бициклических катионов V и VI является энергетически выгодным процессом, причем способность заместителя при *O*-3 стабилизировать гликозил-катион действительно выше, чем у заместителя при *O*-4 (ср. №2 и №5-7).

Таким образом, нами обнаружен новый стереохимический эффект, который позволяет расширить круг известных методов стереоизбирательного α -L-фукозилирования.

¹Расчеты проведены А.Г. Гербстом (ИОХ РАН)

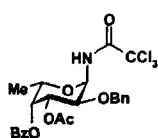
Таблица 2. Сопоставление рассчитанных величин энергий стабилизации (ΔE)* катионов V и VI и экспериментальных результатов фукозилрования донорами 46а-ж и 47а,б,е,ж.

	Заместители		Катион	ΔE (ккал/моль)	$\alpha:\beta$	
	R ¹	R ²			46, X = Br,	47, X = OC(NH)CCl ₃
1	Bn	Bn	IV	0	1:1	1,4:1
2	Bn	Bz	V	-3,6	3,5:1	4:1
3	Bn	Bz NO ₂ -p	V	-2,1	1,9:1	-
4	Bn	BzOMe-p	V	-4,7	5:1	-
5	Bz	Bn	VI	-8,9	13:1	12:1
6	Bz	Bz	V	-4,1	} 20:1	-
			VI	-9,9		
7	Ac	Bz	V	-4,3	} только α	только α
			VI	-11,3		

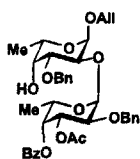
* $\Delta E = E_{\text{полн}}(\text{стабилизированный катион}) - E_{\text{полн}}(\text{нестаблизированный катион})$

Как следует из данных *Таблицы 1*, наиболее эффективными являлись фукозил-доноры, содержащие 2-*O*-бензильный, 3-*O*-ацетильный и 4-*O*-бензоильный заместители. Такой набор защитных групп оказался оптимальным и для выполнения синтезов большинства целевых соединений, поскольку было возможно избирательное высвобождение гидроксильных групп на отдельных этапах синтеза для их дальнейшего гликозилрования или сульфатирования. Использование фукозил-трихлорацетимидатов удобнее, чем бромидов из-за меньшей стабильности последних. Поэтому в дальнейшем для построения α -фукозидной связи был использован донор 47е.

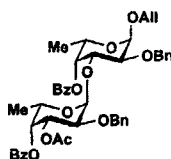
Для изучения влияния реакционной способности гидроксильных групп в гликозил-акцепторах на стереоизбирательность фукозилрования имидатом 47е были проведены реакции взаимодействия этого соединения с рядом нуклеофилов. В качестве последних были использованы первичные спирты (метилвый и аллиловый), моногидроксильные аллил-фукозиды 31 и 32, содержащие свободные гидроксильные группы при *O*-3 (экваториальную) и при *O*-4 (аксиальную), а также диол 37, содержащий свободную экваториальную гидроксильную группу при *O*-2 и аксиальную при *O*-4.



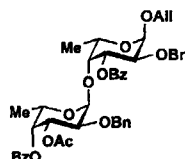
50



51



52



53

Таблица 3. Результаты реакций гликозилирования донором **47e**.

	Акцептор	Продукты	Выход	$\alpha:\beta^*$
1	метанол	α,β -метил-фукозиды	90%	1:2,5
2	аллиловый спирт	α,β -аллил-фукозиды	90%	1:1
3	37	51	79%	только α
4	31	52	87%	только α
5	32	53	85%	только α

*Соотношение изомеров определялось с помощью методов спектроскопии ^1H ЯМР.

Гликозилирование трихлорацетимидатом **47e** моносахаридов **31**, **32** и **37** проходило с высокой стереоизбирательностью. α -Связанные дисахариды **51-53** образовывались с выходами 79-87% (Таблица 3). Конфигурация гликозидной связи была определена по величине КССВ $J_{1,2}$, составляющей 3,4 Hz. В случае 2,4-диола **37** гликозилирование проходило региоселективно по экваториальной гидроксильной группе с образованием (1 \rightarrow 2)-связанного дисахарида **51**. Более низкая стереоизбирательность реакций в случаях метанола и аллилового спирта может быть связана с их большей реакционной способностью из-за стерических и электронных факторов. Вследствие этого атака первоначально образующегося нестабилизированного гликозил-катиона **IV** становится доминирующим процессом (Рисунок 1).

4. Синтез дисахаридов 1-7

Синтез изомерных дисахаридов, различающихся положением сульфатных групп в фукозных остатках (при *O*-2 или при *O*-4), а также соответствующих нессульфатированных аналогов был проведен исходя из общего углеводного предшественника, содержавшего ортогональные защитные группы при *O*-2 (бензильную) и при *O*-4 (бензоильную). При получении дисахаридов **1-7** были отработаны методики избирательного высвобождения гидроксильных групп при *O*-2 и *O*-4, сульфатирования, деблокирования и выделения сульфатированных соединений, использованные далее при получении более крупных олигосахаридов.

Так, из дисахарида **52** была синтезирована серия (1 \rightarrow 3)-связанных дисахаридов **3-5** (Схема 8). Каталитический гидронолиз соединения **52** и последующее дезацилирование продукта **54** приводили к соединению **3**. Сульфатированием диола **54** и удалением защитных групп в соединении **55** получали дисахарид **4**, содержащий сульфатные группы при *O*-2 фукозных остатков.

Для синтеза 4-*O*-сульфатированного изомера **5** в соединении **52** первоначально были удалены все ацильные заместители. Избирательное бензоилирование экваториальной

гидроксильной группы в терминальном фукозном остатке триола **56** проводили через промежуточное образование оловоорганического интермедиата, полученного обработкой **56** Bu_2SnO . Наличие бензоильной группы при *O*-3' в соединении **57** подтверждалось слабопольным сдвигом сигнала протона H-3' в спектре ^1H ЯМР. Сульфатирование соединения **57** и удаление защитных групп в продукте **58** приводили к дисахариду **5** с выходом 56%. Наличие сульфатных групп в соединении **4** при *O*-2 фукозных остатков, а в соединении **5** - при *O*-4, подтверждалось слабопольными сдвигами сигналов соответствующих протонов H-2 и H-4 в спектрах ^1H ЯМР.

Аналогичный подход был успешно использован в синтезе (1→4)-связанных дисахаридов **6** и **7** исходя из соединения **53**, а также (1→2)-связанных дисахаридов **1** и **2** из соединения **51** (Схема 8).

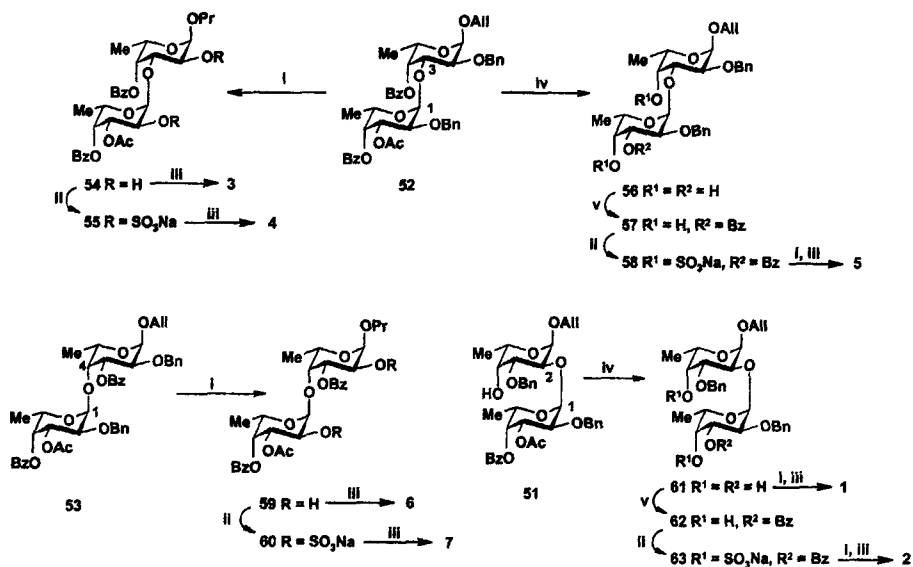


Схема 8. i: H_2 , Pd/C, 1 час, 80%; ii: SO_2 -пу, ДМФА, Amberlite (Na^+), 82-85%; iii: 0,4M NaOH, 40°C, 85-90%; iv: 0,1M MeONa в MeOH, 85% для **56**, 88% для **61**; v: Bu_2SnO , BzCl, 80% для **57**, 77% для **62**.

5. Синтез 2,3-разветвленных трисахаридов 8-10

Построение 2,3-разветвленного трисахаридного скелета было осуществлено в результате региоизбирательного монофукозилирования более реакционноспособной экваториальной гидроксильной группы в дисахаридном 3,4-диоле **64** (Схема 9). Последний был получен удалением изопропилиденовой защиты в соединении **48д**. Использование трихлорацетимидата **47е** как фукозилирующего агента приводило к стереоселективному

образованию α -гликозидной связи. Трисахарид **65** был выделен с выходом 80%. Конфигурация вновь созданной гликозидной связи подтверждалась величиной КССВ $J_{1',2}$ 3,5 Hz в спектре ^1H ЯМР. Бензоилированием трисахарид **65** был переведен в сполна защищенное производное **66**. Наличие бензоильного заместителя при *O*-4 восстанавливающего остатка в **66** указывало, что при взаимодействии соединений **64** и **47e** происходило региоизбирательное построение (1 \rightarrow 3)-, но не (1 \rightarrow 4)-связи.

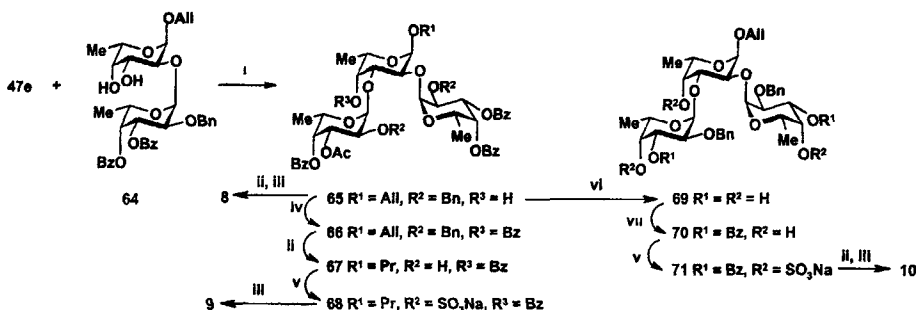


Схема 9. I: 0,1M TMSOTf в CH_2Cl_2 , -30°C , 82%; ii: H_2 , Pd/C, 78-84%; iii: 0,4M NaOH, 40°C , 85-90%; iv: BzCl, Py, 80%; v: SO_3py , ДМФА, Amberlite (Na^+), 75% для **68**, 78% для **71**; vi: 0,1M MeONa в MeOH, 80%; vii: Bu_2SnO , BzCl, 82%.

Удалением защитных групп в соединении **65** был получен трисахарид **8**. Каталитический гидрогенолиз соединения **66**, сульфатирование образовавшегося продукта **67** и последующее удаление защитных групп в **68** приводили к трисахариду **9**, содержащему сульфатные группы при *O*-2 фукозных остатков.

Для синтеза 4-*O*-сульфатированного изомерного трисахарид **10** в соединении **65** действием метилата натрия в метаноле были удалены все ацильные защитные группы (65 \rightarrow 69). Далее для избирательной защиты экваториальных гидроксильных групп пентаол **69** действием двухкратного избытка Bu_2SnO был переведен в станилиденное производное, которое бензоилировали избытком бензоилхлорида с образованием 3',3'''-ди-*O*-бензоилированного трисахарид **70** с выходом 82%. Наличие бензоильных заместителей при *O*-3 обоих терминальных остатков было подтверждено слабопольными сдвигами сигналов соответствующих протонов H-3. Сульфатирование триола **70** и удаление защитных групп в образовавшемся соединении **71** приводили к целевому трисахариду **10**.

6. Реакция гликозилирования дисахаридными донорами

Синтез крупных тетра-, гекса- и октасахаридов был проведен с использованием олигосахаридных гликозил-донорных и гликозил-акцепторных блоков. Как и в случае

сочетания моносахаридов, стратегическими являлись проблемы регио- и стереонаправленного построения гликозидных связей.

Фукозные звенья в линейных олигосахаридах соединены (1→3)- или (1→4)-гликозидными связями, а в разветвленных - (1→2)- и (1→3)-связями. Ретросинтетический анализ этих соединений показал, что их сборку из олигосахаридных блоков оптимально проводить с построением (1→3)-гликозидной связи, поскольку в этом случае нуклеофильным центром является более реакционноспособная экваториальная гидроксильная группа при C-3.

В качестве общего предшественника гликозил-акцептора **72** и гликозил-донора **73** был использован (1→3)-связанный дисахарид **52**, содержащий ортогональные 3'-O-ацетильную и аллильную защитные группы. Избирательное дезацетилирование соединения **52** действием раствора HCl в метаноле приводило к моногидроксильному дисахариду **72**, содержащего свободную гидроксильную группу при C-3 терминального фукозного остатка (80%). Удаление аллильной защитной группы в дисахариде **52** действием хлорида палладия (PdCl₂) в метаноле и последующий перевод полученного полуацетала в трихлорацетимидат **73** проходили с общим выходом 71%. Аналогичные манипуляции с защитными группами были проведены в ходе синтеза (1→4)-связанных дисахаридных блоков **74** и **75** из общего предшественника **53** (Схема 10).

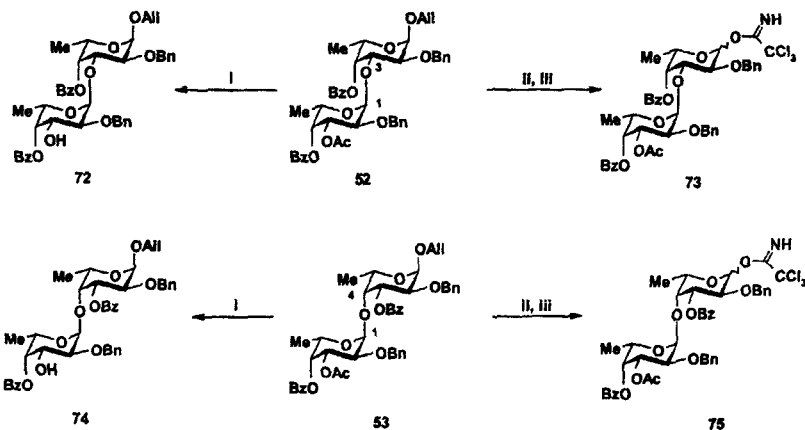


Схема 10. I: 2% HCl в MeOH, 80% для **72**, 78% для **74**; II, PdCl₂, MeOH; III, CCl₃CN, DBU, 71% для **73**, 70% для **75** (суммарный выход на две стадии I и II)

Эффективность изомерных (1→3)- и (1→4)-связанных дисахаридных гликозил-доноров **73** и **75** была изучена в реакциях гликозилирования метанола, аллилового спирта,

моносахарида 31, содержащего свободную гидроксильную группу при C-3, а также в реакциях [2+2]-сочетания пар дисахаридов (73 + 72) и (75 + 74) (Схема 11).

Гликозилирование проводилось при -30°C в CH_2Cl_2 с использованием TMSOTf в качестве катализатора. При более низкой температуре, как и в случае моносахаридных фукозил-трихлорацетимидатов, наблюдалось уменьшение выхода *O*-гликозидов и доминирующее образование α -связанных *N*-гликозидов (73→76, 75→80).

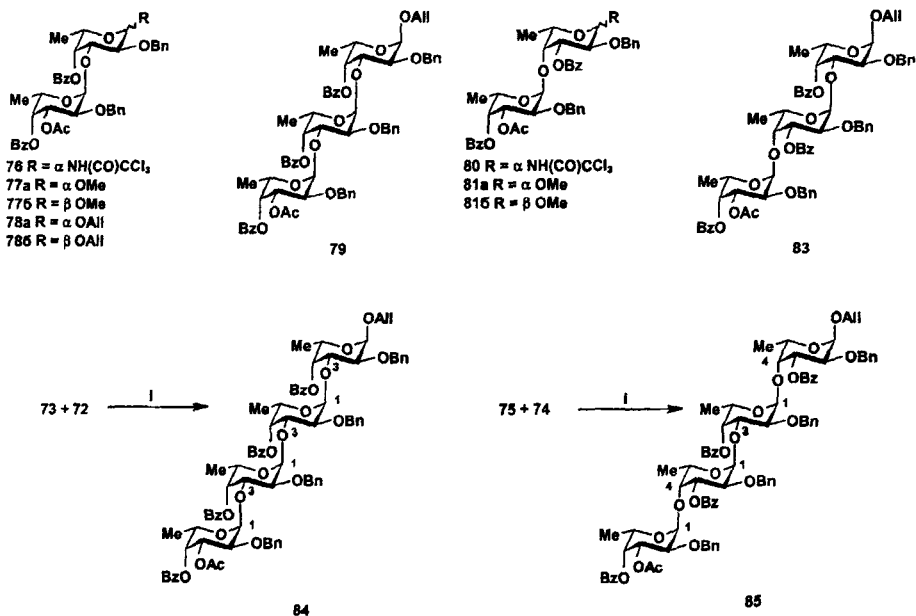


Схема 11. i : 0,1M TMSOTf в CH_2Cl_2 , -30°C , 85% для 84, 83% для 85.

Дисахаридные трихлорацетимидаты 73 и 75 оказались эффективными α -гликозилирующими агентами при использовании в качестве акцепторов моно- и дисахаридов, содержавших экваториальные гидроксильные группы. Реакции [1+2]- и [2+2]-гликозилирования проходили с образованием только α -связанных три- и тетрасахаридов, соответственно (Таблица 4). Высокая стереоизбирательность этих превращений может быть объяснена образованием стабилизированных гликозил-катионов типов V (в случае донора 73, где R¹ - защищенный фукозный заместитель при *O*-3, Рисунок 1) и VI (в случае донора 75, где R² - защищенный фукозный заместитель при *O*-4, Рисунок 1), нуклеофильная атака которых возможна только с α -стороны. Для дисахаридных катионов V и VI были рассчитаны величины энергий стабилизации (ΔE), которые составили -5,8 ккал/моль и -11,0 ккал/моль, соответственно. Кроме того, не следует исключать возможности стереоконтролирующего влияния фукозного заместителя (при *O*-3 в случае 73, при *O*-4 в случае 75), который может

создавать стерические препятствия для подхода гликозил-акцептора с β -стороны. Более низкая стереоизбирательность реакций с метанолом и аллиловым спиртом, как и в случае моносахаридного трихлорацетимидата **47e**, по-видимому, связана с большей вероятностью нуклеофильной атаки нестабилизированного гликозил-катиона типа IV (Рисунок 1).

Таблица 4. Результаты гликозилирования донорами **73** и **75**

	Донор	Акцептор	Продукты	Выход	$\alpha:\beta^*$
1	73	метанол	α,β -метил-гликозиды 77a,b	90%	1:1,5
2	73	аллиловый спирт	α,β -аллил-гликозиды 78a,b	88%	1:1
3	73	31	79	87%	только α
4	73	72	84	85%	только α
5	75	метанол	α,β -метил-гликозиды 81a,b	90%	1:1,2
6	75	31	83	83%	только α
7	75	74	85	85%	только α

*Соотношение изомеров определялось с помощью методов спектроскопии ^1H ЯМР.

7. Синтез линейных три- и тетрасахаридов **11-15**, **19-21**, **25** и **26**

Для получения линейных три- (**11-15**) и тетрасахаридов **19-21**, **25** и **26** была проведена последовательность превращений, аналогичная использованной в ходе синтеза дисахаридов **1-7**. Несульфатированные и избирательно сульфатированные олигосахариды получали из общего углеводного предшественника. Таковыми для построенных из повторяющихся (1 \rightarrow 3)-связанных фукозных остатков три- (**11-13**) и тетрасахаридов (**19-21**) стали соединения **79** и **84**, соответственно (Схема 12). Удалением защитных групп в **79** и **84** были получены несульфатированные олигосахариды **11** и **19**. Избирательное высвобождение гидроксильных групп при C-2 фукозных остатков в **79** и **84**, и их последующее сульфатирование и деблокирование образовавшихся соединений **87** и **89** приводило к олигосахаридам **12** и **20**, содержащим сульфатные группы при O-2 фукозных остатков.

Обработка соединений **79** и **84** раствором метилата натрия в метаноле приводила к удалению сложнэфирных групп только в терминальном фукозном остатке. Дальнейшее дебензоилирование субстратов в этих условиях затруднено, по-видимому, вследствие их ограниченной растворимости в метаноле. Замена растворителя на диметилсульфоксид (ДМСО) и использование 0,1 М водного раствора NaOH позволили провести это превращение с хорошими выходами 80%. Избирательное бензоилирование экваториальной гидроксильной группы при C-3 в терминальном остатке полученных полиолов **90** и **93** (стадия γ на Схеме 12), сульфатирование аксиальных гидроксильных групп и последующее деблокирование приводили к олигосахаридам **13** и **21**, содержащим сульфатные группы при O-4 фукозных остатков.

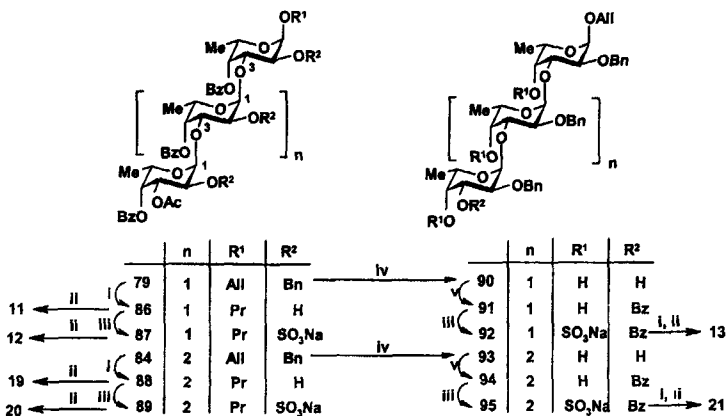


Схема 12. i: H₂, Pd/C, 80% для 86, 78% для 88, ii: 0,4M NaOH, 40°C, 85-90%, iii: SO₃ ру, ДМФА, Amberlite (Na⁺), 75-80%; iv: 0,1M NaOH в ДМСО, 80%; v: Bu₂SnO, BzCl, 80% для 91, 76% для 95.

Три- (14, 15) и тетрасахариды (22, 23), соответствующие линейным участкам цепей фукоиданов, построенным из чередующихся (1→3)- и (1→4)-связанных фукозных звеньев, были получены из соединений 83 и 85, соответственно (Схема 13).

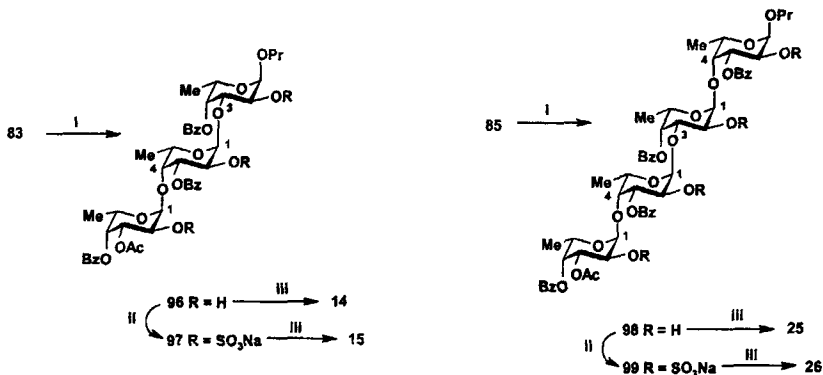


Схема 13 i: H₂, Pd/C, 80% для 96, 75% для 98, ii. SO₃ ру, ДМФА, Amberlite (Na⁺), 78% для 97, 80% для 99; iii: 0,4M NaOH, 40°C, 85-90%.

8. Синтез разветвленных тетрасахаридов 16-18

Синтез 2,3-разветвленного тетрасахарида 100 был проведен по схеме [2+2] сборки углеводной цепи с использованием дисахаридного 3,4-диола 64 и трихлорацетимидата 73 (Схема 14). Реакция проходила с высокой регио- и стереоизбирательностью – выход тетрасахарида 100 составил 82%. Конфигурация вновь созданной гликозидной связи подтверждалась величиной КССВ $J_{1,2}$: 3,5 Hz в спектре ¹H ЯМР. Бензоилированием

тетрасахарид **100** был переведен в сполна защищенное производное **101**. Наличие бензоильного заместителя при *O*-4 восстанавливающего остатка в **101** подтверждало то, что при взаимодействии соединений **64** и **73** проходило региоизбирательное построение (1→3)-, но не (1→4)-связи.

Из соединения **100** в результате превращений, аналогичных использованным в синтезе 2,3-разветвленных трисахаридов **8-10**, были получены несulfатированный и избирательно sulfатированные тетрасахариды **16-18** (Ср. Схемы 14 и 9).

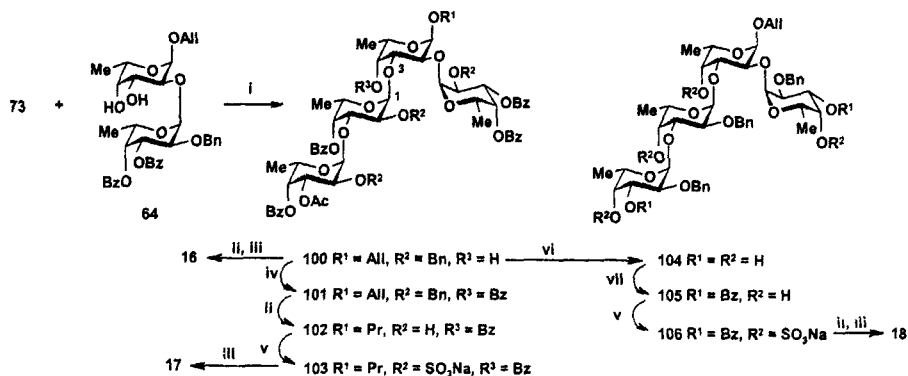


Схема 14 i 0,1M TMSOTf в CH_2Cl_2 , -30°C , 82%, ii H_2 , Pd/C, 78-84%, iii 0,4M NaOH, 40°C , 85-90%, iv BzCl, Py 80%, v SO_3py , ДМФА, Amberlite (Na^+), 75-80%, vi 0,1M NaOH в ДМCO, 80%, vii Bu_2SnO , BzCl, 77%.

9. Синтез линейных гекса- и октасахаридов 24-28

Успешное использование дисахаридных блоков в синтезе три- и тетрасахаридов обосновало возможность проведения сборки гекса- и октасахаридных цепей по конвергентным схемам [2+4] и [4+4].

Изомерные тетрасахаридные акцепторы **107** и **111**, несущие свободную гидроксильную группу при *C*-3 терминального фукозного остатка, были получены в результате избирательного 3-*O*-дезацетилирования соединений **84** и **85**, соответственно [2+4]-Сочетание пар соединений (**73**+**107**) и (**75**+**111**) приводило к образованию только α -связанных гексасахаридов **108** и **112** с выходами 80 и 82%, что еще раз продемонстрировало высокую эффективность (1→3)- и (1→4)-связанных дисахаридных трихлорацетимидов **73** и **75** как α -гликозилирующих агентов. Из соединения **108** далее были получены несulfатированный и избирательно sulfатированный гексасахариды **24** и **25**, построенные из повторяющихся (1→3)- α -фукозных остатков, а из соединения **112** – гексасахариды **26** и

27, в которых чередуются (1→3)- и (1→4)-гликозидные связи между α-фукозными звеньями (Схема 15).

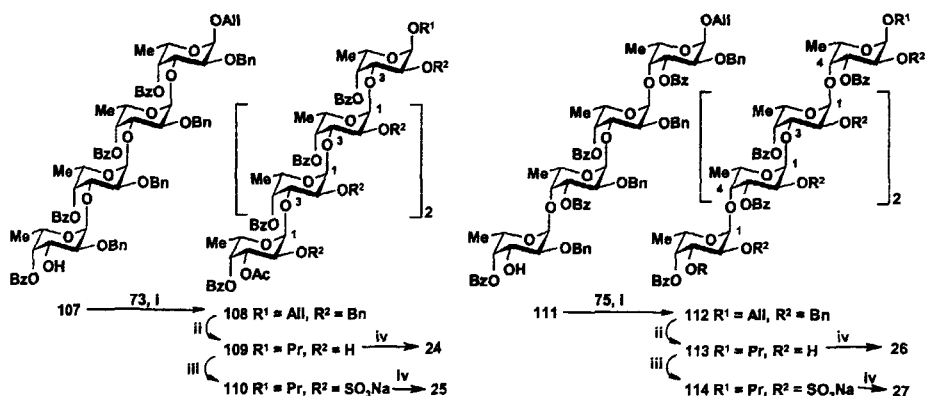


Схема 15. i: 0,1M TMSOTf в CH₂Cl₂, -30°C, 80% для 108, 82% для 112; ii: H₂, Pd/C, 78-84%; iii: SO₃ py, ДМФА, Amberlite (Na⁺), 75-80%; iv: 0,4M NaOH, 40°C, 85-90%.

Сборка октасахарида 28 по схеме [4+4] предпочтительнее, чем по схеме [2+6], поскольку препаративное отделение октасахаридного продукта от тетрасахаридов эффективнее, чем от гексасахаридов. Удаление аллильной защиты в тетрасахаридах 84 и последующий перевод образовавшегося полуацетала в трихлорацетимидат приводили к донорному блоку 115 с выходом 74% (Схема 16). [4+4]-Гликозилирование проходило с высокой стереоизбирательностью. Линейный (1→3)-α-связанный октасахарид 116 был получен с выходом 80%. Далее он был переведен в октасульфатированное производное 28 с выходом 49%.

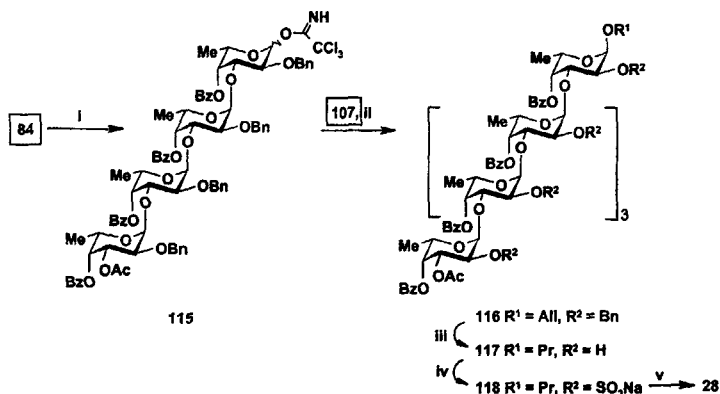


Схема 16. i: PdCl₂, MeOH; CCl₃CN, DBU, 74%; ii: 0,1M TMSOTf в CH₂Cl₂, -30°C, 80%; iii: H₂, Pd/C, 70%; iv: SO₃ py, ДМФА, Amberlite (Na⁺), 78%; v: 0,4M NaOH, 40°C, 90%.

10. Области использования олигосахаридов 1-28

Синтезированные олигосахариды 1-28 являются ценными модельными соединениями для структурных, конформационных и биохимических исследований природных фукоиданов. Так, характеристики спектров ^1H и ^{13}C ЯМР соединений 1-28 образуют представительную базу данных, необходимых для исследования фукоиданов. Эти данные уже были использованы при установлении структуры фукоиданов из бурых водорослей *Fucus evanescens*² и *Fucus distichus*³

В лаборатории химии гликоконъюгатов ИОХ проводится конформационный анализ олигосахаридов 1-28 для выявления зависимости конформации гликозидной связи в ряду данных соединений от таких структурных характеристик, как тип межфукозных связей (1→2, 1→3, 1→4), наличие сульфатных и фукозных заместителей, длины олигосахаридной цепи. Обнаруженные закономерности и неизвестные ранее конформационные эффекты позволят сделать выводы об особенностях пространственной организации природных фукоиданов, что важно для понимания их биологического действия.

Кроме этого, с использованием синтезированных олигосахаридов были начаты биохимические исследования с целью определения участков цепей фукоиданов, ответственных за противовоспалительную, антикоагулянтную и антиангиогенную активности.

Выводы

- 1 Проведен регио- и стереонаправленный синтез избирательно сульфатированных и несulfатированных фукоолигосахаридов 1-28, соответствующих линейным и разветвленным участкам цепей природных полисахаридов фукоиданов.
2. Изучено влияние природы заместителей в моно- и олигосахаридных фукозил-донорах на стереозбирательность реакции α -гликозилирования и впервые показано стереоконтролирующее влияние ацильного заместителя при O-3 в фукозных остатках, что позволяет расширить круг известных методов синтеза 1,2-*цис*-фукозидов
- 3 Показана эффективность сборки α -L-фуко-тетра-, -гекса- и -октасахаридов по конвергентным схемам [2+2], [2+4] и [4+4], соответственно
- 4 Синтезированные олигосахариды 1-28 являются ценными модельными соединениями для структурного и конформационного анализа природных фукоиданов, а также для определения фармакофорных группировок в этих полисахаридах

² M. I. Bilan, A. A. Grachev, N. E. Ustuzhanina, A. S. Shashkov, N. E. Nifantiev, A. I. Usov, Structure of a fucoidan from the brown seaweed *Fucus evanescens* C. Ag., *Carbohydr. Res.*, (2002), 337, 719


³ M. I. Bilan, A. A. Grachev, N. E. Ustuzhanina, A. S. Shashkov, N. E. Nifantiev, A. I. Usov, A highly regular fraction of a fucoidan from the brown seaweed *Fucus distichus* L., *Carbohydr. Res.* (2004), 339, 511.

Основное содержание диссертации изложено в следующих работах:

1. A.G. Gerbst, N.E. Ustuzhanina, A.A. Grachev, D.E. Tsvetkov, E.A. Khatuntseva, N.E. Nifantiev, Effect of the nature of protecting group at O-4 on stereoselectivity of glycosylation by 2,3-di-O-benzyl-fucosyl bromides// *Mend. Commun.*, 1999, 114-116.
2. E.A. Khatunseva, N.E. Ustuzhanina, G.V. Zatonskii, A.S. Shashkov, A.I. Usov, N.E. Nifantiev, Synthesis, NMR and conformational studies of fucoidan fragments. 1: Desulfated 2,3- and 3,4-branched trisaccharide fragments and constituting disaccharides// *J. Carbohydr. Chem.*, 2000, 19(9), 1151-1173.
3. A.G. Gerbst, N.E. Ustuzhanina, A.A. Grachev, E.A. Khatuntseva, D.E. Tsvetkov, D.M. Whitfield, A. Berces, N.E. Nifantiev, Synthesis, NMR and conformational studies of fucoidan fragments 3: effect of benzoyl group at O-3 on stereoselectivity of glycosylation by 3-O- and 3,4-di-O-benzoylated 2-O-benzylated fucosyl bromides// *J. Carbohydr. Chem.*, 2001, 20(9), 821-831.
4. A.G. Gerbst, N.E. Ustuzhanina, A.A. Grachev, N.S. Zlotina, E.A. Khatuntseva, D.E. Tsvetkov, A.S. Shashkov, A.I. Usov, N.E. Nifantiev, Synthesis, NMR and conformational studies of fucoidan fragments 4: 4-mono- and 4,4'-disulfated (1-3)- α -L-fucobioside and 4-sulfated fucoside fragments// *J. Carbohydr. Chem.*, 2002, 21(4), 313-324.
5. A.G. Gerbst, N.E. Ustuzhanina, A.A. Grachev, E.A. Khatuntseva, D.E. Tsvetkov, A.S. Shashkov, A.I. Usov, M.E. Preobrazhenskaya, N.A. Ushakova, N.E. Nifantiev, Synthesis, NMR and conformational studies of fucoidan fragments 5: Linear 4,4',4"-tri-O-sulfated and parent non-sulfated (1-3)-fucotrioside fragments// *J. Carbohydr. Chem.*, 2003, 22(2), 37-50.
6. Гербст А.Г., Грачев А.А., Устюжанина Н.Е., Хатунцева Е.А., Цветков Д.Е., Усов А.И., Шашков А.С., Преображенская М.Е., Ушакова Н.А., Нифантьев Н.Э., Синтез, ЯМР и конформационные исследования фрагментов фукоиданов. VI. Фрагменты, содержащие α -(1 \rightarrow 2)-связанное фукобиозидное звено// *Биоорганическая химия*, 2004, 30, 156.
7. A.A. Grachev, A.G. Gerbst, N.E. Ustuzhanina, E.A. Khatuntseva, A.S. Shashkov, A.I. Usov, N.E. Nifantiev, Synthesis, NMR and conformational studies of fucoidan fragments 7: influence of length and branching on the conformational flexibility of linear (1 \rightarrow 3)-linked oligosaccharide chains// *J. Carbohydr. Chem.*, 2005, 24, 85-99.
8. N.E. Ustuzhanina, V.B. Krylov, A.A. Grachev, N.E. Nifantiev, Efficient convergent synthesis of tetra-, hexa- and octasaccharide fucoidan fragments, *Tetrahedron*, 2005.
9. Устюжанина Н.Е., Гербст А.Г., Хатунцева Е.А., Нифантьев Н.Э., Синтез линейных трисахаридных фрагментов фукоиданов// *Тезисы докладов V молодежной научной школы-конференции по органической химии* (Екатеринбург), 2002.
10. Устюжанина Н.Е., Гербст А.Г., Грачев А.А., Хатунцева Е.А., Усов А.И., Цветков Д.Е.,

Шашков А С., Преображенская М Е., Ушакова Н.А., Нифантьев Н.Э., Синтез и конформационный анализ фрагментов фукоиданов// *Тезисы докладов XVII Менделеевского съезда по общей и прикладной химии* (Казань), 2003.

11. Устюжанина Н Е., Гербст А Г, Хатунцева Е.А., Нифантьев Н.Э., Стереонаправленный синтез тетрасахаридных фрагментов фукоиданов// *Тезисы докладов VI молодежной научной школы-конференции по органической химии* (Новосибирск), 2003.
12. N.E. Ustyuzhanina, V.B. Krylov, A.A. Grachev, N.E. Nifantiev, Stereoselective synthesis of tetra- and hexasaccharide fucoidan fragments// *Тезисы докладов XXII Международного Симпозиума по углеводам* (Глазго), 2004

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'N.E. Nifantiev', written in a cursive style.

Принято к исполнению 05/05/2005
Исполнено 06/05/2005

Заказ № 838
Тираж 150 экз

ООО «11-й ФОРМАТ» ИНН 7726330900
Москва, Балаклавский пр-т, 20-2-93
(095) 747-64-70
www.autoreferat.ru

РНБ Русский фонд

2006-4

7895

№ - 8 5 6 0